

JULIANA BARROSO ZIMMERMANN

**RESPOSTA IMUNE LOCAL ÀS LESÕES HPV INDUZIDAS
DO COLO UTERINO EM PACIENTES PORTADORAS E NÃO
PORTADORAS DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA
HUMANA**

ORIENTADOR: PROF. DR. VICTOR HUGO DE MELO (UFMG)

CO-ORIENTADORA: PROF^A DRA. HELENICE GOBBI (UFMG)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

BELO HORIZONTE – MG

2008

JULIANA BARROSO ZIMMERMANN

**RESPOSTA IMUNE LOCAL ÀS LESÕES HPV INDUZIDAS
DO COLO UTERINO EM PACIENTES PORTADORAS E NÃO
PORTADORAS DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA
HUMANA**

TESE DE DOUTORADO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER DO DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, APROVADA EM DEFESA DATADA DE 28/03/08, COMO REQUISITO PARCIAL À OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTORA EM MEDICINA.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PATOLOGIA GINECOLÓGICA E REPRODUÇÃO.

BANCA EXAMINADORA: PROF^A DRA. LUISA LINA VILLA, PROF. DR. LUIZ MARTINS COLLAÇO, PROF. DR. AGNALDO LOPES DA SILVA FILHO, PROF^A DRA. ANNAMARIA RAVARA VAGO, PROF. DR. VICTOR HUGO DE MELO (ORIENTADOR), PROF^A DRA. HELENICE GOBBI (CO-ORIENTADORA)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

BELO HORIZONTE - MG

2008

Ao meu pai, Sebastião Zimmermann, pelo carinho, amor, dedicação e por ter conseguido transmitir para mim o amor pela profissão;

À minha mãe, Jane, pelo carinho, coragem, constante incentivo, sempre lutando para meu sucesso. Quando pequena, lendo os textos de Geografia e História, ajudando-me a estudar. A fase das maquetes do colégio, a torcida pelo Vestibular, a tão sonhada Residência Médica, o Mestrado e, hoje, o Doutorado. Mãe, hoje você não lê mais os longos textos de História e Geografia para mim, mas já aprendeu o que são as células Langerhans....

Ao meu marido, Lívio, amigo, companheiro, meu amor, meu agradecimento eterno. Ao constante apoio nesta incansável vida acadêmica. Sem você teria sido muito mais difícil, talvez até impossível!

À minha Vó Júlia, que sempre foi minha torcedora oficial. Hoje tenho certeza; está toda orgulhosa. Dizem por aí que saudade diminui com tempo. Quanta mentira!!! Saudade só aumenta!!! Saudades eternas, só compensadas pela certeza de que você esteve e está comigo em todos os momentos!!!

Ao meu Vô Barroso, por nos ter ensinado que a maior riqueza de um indivíduo é o seu conhecimento.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Victor Hugo de Melo pelo carinho, dedicação e atenção nestes oito anos de convivência. Obrigada pelo apoio nos momentos difíceis e por confiar em minha capacidade.
- À Prof^a. Helenice Gobbi, que me recebeu de braços abertos, com carinho, dedicação e muita paciência, porque soube não apenas me ensinar, mas muito mais que isso, soube me entusiasmar com o mundo microscópico.
- Ao colega Rafael Malagoli, quem me ajudou na primeira imuno-histoquímica que fiz, ainda na fase de teste, quando eu ainda pensava que uma ginecologista tão macroscópica não poderia se aventurar no campo microscópico.
- Aos colegas do laboratório de Patologia Mamária, sempre prontos para ajudar com a diluição de um anticorpo, com a confecção de um tampão, tirar uma dúvida. Vocês fizeram os meus dias bem mais fáceis!
- À minha colega patologista, Marília Sena Felipe pelo carinho e ajuda na interpretação dos resultados.
- Ao Prof. Márcio José Martins Alves pela ajuda na análise de inúmeros cálculos transformando a complicada estatística em ferramenta agradável e produtiva.
- Aos funcionários do CTR-DIP por terem me recebido com os braços abertos, sempre dispostos a colaborar.
- Às pacientes que autorizaram a realização deste trabalho. Minha gratidão por entender que a pesquisa científica é base de toda a evolução da Medicina. Agradeço especialmente às minhas pacientes da Faculdade de Medicina (UFMG), que com dor, tristeza, amargura e até revolta me fizeram entender que muito mais importante que curar é saber viver !!!

Número	Título
Tabela 1	Teste Kolmogorov-Smirnov
Tabela 2	Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas de acordo com os grupos e a comparação entre eles.
Tabela 3	Associação entre genótipos do HPV em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV.
Tabela 4	Associação entre lesão intra-epitelial cervical de alto-grau e infecção pelo HIV.
Tabela 5	Associação entre genótipos do HPV e lesão intra-epitelial cervical de alto-grau.
Tabela 6	Comparação entre a contagem de células de Langerhans em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV ao longo do epitélio cervical.
Tabela 7	Contagem das células de Langerhans ao longo do epitélio, considerando o marcador CD1a e sua associação com os dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas.
Tabela 8	Modelo final da regressão linear para o número médio de células de Langerhans marcadas com CD1a.
Tabela 9	Contagem das células de Langerhans ao longo do epitélio considerando o marcador S100 e sua associação com os dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas.
Tabela 10	Modelo de regressão linear final para o número médio de células de Langerhans considerando o marcador S100
Tabela 11	Contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV.
Tabela 12	Contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica e ao longo do epitélio em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV.
Tabela 13	Contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica, considerando o marcador CD1a, e sua associação com os dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas.
Tabela 14	Modelo de regressão linear final para número médio de células de Langerhans na área

da lesão histopatológica marcadas com CD1a

- Tabela 15 Contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica, considerando o marcador S100 e sua associação com os dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas.
- Tabela 16 Modelo de regressão linear final para número médio de células de Langerhans na área da lesão histopatológica marcadas com S100
- Tabela 17 Associação entre contagem de células de Langerhans, linfócitos TCD4+ e carga viral do HIV
- Tabela 18 Expressão da E-caderina no epitélio cervical em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV.
- Tabela 19 Associação entre expressão da E-caderina e lesão intra-epitelial cervical de alto-grau.
- Tabela 20 Associação entre expressão da E-caderina (após grupamento) e lesão intra-epitelial cervical de alto-grau.
- Tabela 21 Comparação dos dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com a marcação das células epiteliais cervicais com E-caderina
- Tabela 22 Modelo de regressão logística final para a marcação com E-caderina

Número	Título
Figura 1	Etapas da Imuno-histoquímica
Figura 2	Identificação das células de Langerhans no epitélio cervical através da marcação com S100 e CD1a
Figura 3	Expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial
Figura 4	Marcação das células de Langerhans com CD1a e S100 em pacientes soropositivas
Figura 5	Marcação das células de Langerhans com CD1a e S100 em pacientes soronegativas
Figura 6	Expressão da E-caderina no epitélio cervical normal e alterado
Figura 7	Expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial
Figura 8	Expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial e comparação com o corte corado com HE.
Gráfico 1	Comparação dos genótipos do HPV entre os dois grupos de pacientes avaliadas (soropositivas e soronegativas para o HIV)
Gráfico 2	Comparação entre lesões do colo uterino diagnosticadas pela histopatologia em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV

ABREVIATURAS

<i>Abreviaturas</i>	<i>Significado</i>
CC	Cervicite Crônica
CH	Captura híbrida
DST	Doença Sexualmente Transmissível
HAART	Terapia antiretroviral de alta potência
HE	Coloração com hemaroxilina-eosina
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HG	Examinador: Helenice Gobbi
HPV	Papilomavírus humano
HI SIL	Lesão intra-epitelial cervical de alto grau
IFN	Interferon
JZ	Examinador: Juliana Zimmermann
Lo sil	Lesão intra-epitelial cervical de baixo grau
MSF	Patologista: Marília Sena Felipe
NIC	Neoplasia intra-epitelial cervical
PCR	Reação em cadeia de polimerase
SMF	Sistema Mononuclear Fagocitário
TNF	Fator de necrose tumoral
MHC	Complexo de histocompatibilidade principal
TGF	Fator de crescimento tumoral
DAB	Diamino-benzidina (coloração)

EPÍGRAFE

“Insistir, insistir sempre, contra tudo e contra todos, desde que tenhamos certeza de que o
nosso ponto de vista está correto”.

(Grimaldo Carvalho)

Resumo	12
Introdução e Revisão da Literatura	13
Objetivos	21
Pacientes e Métodos	
a- Anamnese e Exame físico	22
b- Histopatologia	24
c- Imuno-Histoquímica	25
d- Contagem de leucócitos TCD4+ e carga viral para o HIV.	32
e- Técnica de detecção molecular do HPV	32
Método Estatístico	32
Método Bibliográfico	35
Resultados	36
Discussão	66
Conclusões	73
Referências Bibliográficas	74
Anexos	
a- Tabela 7a = Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com $p > 0,25$, não incluídos no modelo multivariado inicial, considerando o marcador CD1a e a média da contagem de células de Langerhans ao longo do epitélio.	81
b- Tabela 7b = Comparação das variáveis quantitativas com o número médio de células de Langerhans, considerando o marcador CD1a, ao longo do epitélio.	81
c- Tabela 7c = Valores de p e ordem de retirada das variáveis do modelo multivariado para o marcador CD1a ao longo do epitélio cervical	82
d- Tabela 9a = Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com $p > 0,25$, não incluídos no modelo multivariado inicial, considerando o marcador S100 e a média da contagem de células de Langerhans ao longo do epitélio.	83
e- Tabela 9b= Comparação das variáveis quantitativas e número médio de células de Langerhans, considerando o marcador S100, ao longo do epitélio.	83
f- Tabela 9c = Valores de p e ordem de retirada das variáveis do modelo multivariado para o marcador S100 ao longo do epitélio cervical.	84
g- Tabela 13a = Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com $p > 0,25$, não incluídos no modelo multivariado inicial,	85

	considerando o marcador CD1a e a média da contagem de células de Langerhans na área da lesão.	11
h-	Tabela 13b= Comparação das variáveis quantitativas com número médio de células de Langerhans na área da lesão, considerando o marcador CD1a.	85
i-	Tabela 13c = Valores de p e ordem de retirada das variáveis do modelo multivariado para o marcador CD1a na área da lesão cervical.	86
j-	Tabela 15a = Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com $p > 0,25$, não incluídos no modelo multivariado inicial, considerando o marcador S100 e a média da contagem de células de Langerhans na área da lesão.	87
k-	Tabela 15b= Comparação das variáveis quantitativas com número médio de células de Langerhans na área da lesão, considerando o marcador S100.	87
l-	Tabela 15c = Valores de p e ordem de retirada das variáveis do modelo multivariado para o marcador S100 na área da lesão cervical.	88
m-	Tabela 21a = Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com $p > 0,25$, não incluídos no modelo multivariado inicial para a marcação com E-caderina.	89
n-	Tabela 21b= Comparação das variáveis quantitativas com a marcação pela E-caderina.	90
o-	Tabela 21c = Valores de p e ordem de retirada das variáveis do modelo multivariado para a marcação com a E-caderina na área da lesão cervical, considerando também a significância clínica.	90
p-	Especificações dos anticorpos utilizados no estudo (CD1a, E-caderina e S100) e especificação do sistema de detecção Novolink.	91
q-	Aprovação do estudo nos comitês de ética: COEP e CEP-UNIPAC	97

Objetivando avaliar a contagem de células de Langerhans na mucosa cervical de pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV foi realizado um estudo com 77 pacientes, sendo 40 soropositivas e 37 soronegativas para o HIV que foram submetidas à colposcopia e biópsia de colo uterino. O material obtido através da biópsia de colo uterino foi encaminhado para estudo histopatológico e imuno-histoquímico, utilizando-se os anticorpos CD1a (1:200), S100 (1:1200) e E-caderina (1:400), todos da marca DAKO. O sistema de detecção utilizado foi o Novolink (Novocastra). Nas pacientes soropositivas para o HIV, considerando ao longo do epitélio, a marcação pelo anticorpo CD1a, a média de células/campo foi de $0,80 \pm 0,7$ células e pelo anticorpo S100 a média de células/campo foi de $1,3 \pm 1,0$ células. Nas pacientes soronegativas para o HIV, considerando-se ao longo do epitélio, pelo marcador CD1a, a média de células/campo foi de $2,6 \pm 1,6$ células e pelo marcador S100 verificou-se contagem de $3,6 \pm 1,7$ células, o que determinou para o CD1a ($p < 0,0001$) e para S100 ($p < 0,0001$). Entretanto, esta contagem não se associou à carga viral, à contagem de linfócitos TCD4+ e nem ao genótipo do papilomavírus humano ($p > 0,05$). A análise multivariada identificou como responsável pela redução do número de células de Langerhans apenas a infecção pelo HIV. Conclui-se que as pacientes soropositivas apresentam menor quantidade de células de Langerhans na mucosa cervical, quando comparadas com as soronegativas, mas este efeito não está associado à contagem de linfócitos TCD4+ e a carga viral do HIV. (Palavras-chave: *Langerhans, HIV, HPV, neoplasia cervical*).

The objective of this study was to determine local immunity, by evaluating Langerhans cell density in cervical biopsies of HIV-positive and HIV-negative women. A cross-sectional study that included HIV-infected and HIV-non-infected women. All patients had HPV-DNA in uterine cervix, detected by Polymerase Chain Reaction or Hybrid Capture II, and their cervical biopsies were assessed for Langerhans cell density and intraepithelial neoplasia (CIN). Langerhans cells were identified by immunohistochemistry using CD1a and S100 antibodies. Associations among cervical Langerhans cell density, cervical histology, TCD4+ cells count and HIV viral load were analyzed by logistic regression (SPSS, version 12.0). 77 women (40 seropositive and 37 seronegative) were enrolled. Langerhans cell density of HIV-infected women was 0.80 ± 0.7 cells (antibody CD1a) and 1.3 ± 1.0 cells (antibody S100), and in the HIV-non-infected women was 2.6 ± 1.6 cells (antibody CD1a) and $3.6 \pm 1,7$ cells (antibody S100). Univariate analyses showed significant differences between groups: CD1a ($p < .0001$) and S100 ($p < .0001$). There was no association among Langerhans cell density and viral load, TCD4+ cells count or human papillomavirus genotypes ($p > .05$). In a logistic regression model only HIV-infection was independently associated to decrease in Langerhans cell density. HIV-infection is an independent factor to explain the decrease of local immunity of uterine cervix, allowing the development of cervical lesions. This effect is not associated to TCD4+ cells count or HIV viral load. (Key words: *Langerhans cell, HIV, HPV, cervical neoplasia*)

1. INTRODUÇÃO

O conceito de imunidade pode ter existido há muito tempo, conforme sugere o antigo hábito chinês de tornar as crianças resistentes à varíola fazendo-as inalar pós que eram obtidos de lesões cutâneas provenientes de pacientes em recuperação desta doença. Desde então, tem havido notável transformação do nosso conhecimento sobre o sistema imune e suas funções (ABBAS et al., 2000).

A resposta imune depende diretamente das células e de seus respectivos produtos pertencentes ao sistema imune. Admite-se que todas as células sanguíneas originam-se de uma única célula não diferenciada presente na medula óssea, das quais se originam células progenitoras que constituem a base de diferentes linhagens celulares (CALICH; VAZ, 1988). Todas as células sanguíneas originam-se de uma "célula-tronco". Essa célula fica comprometida a se diferenciar em linhagens particulares, isto é, eritróide, megacariocítica, granulocítica, monocítica e linfocítica. A proliferação e maturação das células na medula óssea são estimuladas por citocinas, também chamadas de fatores estimuladores de colônias. Desse modo, a medula óssea, além de renovar as células progenitoras e sua progênie diferenciada, contém numerosas células plasmáticas secretoras de anticorpos que se desenvolvem em tecidos linfóides periféricos, como é o caso dos linfócitos B. Com isso, a linhagem linfocítica, dependendo do órgão linfóide onde ocorrerá a maturação, originará os linfócitos T ou B, as principais células efetoras da resposta imune (ABBAS et al., 2000).

Os macrófagos são células que pertencem ao SMF (Sistema Mononuclear Fagocitário), originando-se a partir de células medulares primitivas. Do sangue periférico, os monócitos migram para os tecidos, diferenciando-se localmente em células de Langerhans (mucosa), macrófago alveolar (pulmão), osteoclasto (ossos) etc. As principais funções dessas células incluem a fagocitose de partículas e a apresentação de antígenos para os linfócitos T e B. Estas células, após digerirem uma ampla variedade de partículas, apresentam o antígeno para o sistema imune, favorecendo o seu reconhecimento pelas células imunocompetentes (ABBAS et al., 2000). Na função de células apresentadoras de antígenos, merecem especial atenção as células de Langerhans. Tais células apresentam

uma grande área de superfície celular, com processos celulares filamentosos que formam uma verdadeira rede nestes locais. Nestas superfícies há uma grande apreensão de antígenos, podendo participar anticorpos e componente C3b do sistema do complemento (CALICH; VAZ, 1988).

As células de Langerhans estão presentes na maioria dos órgãos não-linfóides, incluindo o epitélio (epiderme e mucosa). Apresentam morfologia diversa de acordo com seu estágio de maturação. As do *tipo 1* caracterizam-se por apresentar forma irregular, estrelada, exibindo numerosos prolongamentos citoplasmáticos longos e delgados que partem do corpo celular seguindo direções variadas; por outro lado, as do *tipo 2* apresentam-se com morfologia arredondada e prolongamentos citoplasmáticos curtos. Os extensivos prolongamentos citoplasmáticos das células dendríticas, requeridos e adquiridos morfológicamente em fase mais tardia, durante os processos de ativação e diferenciação dessas, são responsáveis pela sua capacidade de interação celular. Encontram-se distribuídas entre os ceratinócitos basais e supra-basais do epitélio escamoso da epiderme e da mucosa, perfazendo cerca de 3% a 8% do total desse epitélio (LINS et al., 2003). Quando um antígeno penetra no epitélio mucoso ele permeia a camada epitelial, onde se encontram as células de Langerhans residentes que o captam e o endocitam em vesículas, recebendo ação de citocinas. Perdendo sua aderência, estas células arredondam-se e migram para vasos linfáticos dos linfonodos. Assim, a partir do momento em que essas células se tornam residentes nos linfonodos, já se desenvolveram em potentes apresentadoras de antígenos. Os linfócitos T virgens que circulam através dos linfonodos, ao encontrarem essas células, dão início à resposta imune (LINS et al., 2003).

A identificação das células de Langerhans é realizada através da técnica de imuno-histoquímica que detecta moléculas (antígenos) teciduais, sendo de grande valor nos diagnósticos anatomopatológicos e na investigação científica. O mecanismo básico é o reconhecimento do antígeno por um anticorpo primário associado a diversos tipos de processos de visualização. Atualmente, há disponibilidade de grande número de anticorpos para uso em tecidos fixados em formol e incluídos em blocos de parafina, permitindo o estudo de blocos arquivados por longos períodos. Para a identificação das células de Langerhans utilizam-se, normalmente, os marcadores (anticorpos) S-100 e CD1a. Relatam

Difranco et al. (1985), Reichhardt et al. (1991) e Lombardi et al. (1993), que o marcador que melhor identifica as células de Langerhans é a molécula de superfície glicoprotéica CD1, em destaque CD1a (T6), que parece ser exclusiva das referidas células e suas precursoras. O antígeno CD1 representa uma família de moléculas apresentadoras de antígenos, envolvidas na apresentação de antígenos não protéicos aos linfócitos T (REIS e SOUSA et al., 1999). A família do gene CD1 envolve, pelo menos, três produtos relativamente bem caracterizados: CD1a, CD1b e CD1c, que apresentam similaridade com as moléculas do MHC de classe I e são expressas pelos timócitos corticais, sendo considerados antígenos de diferenciação timocítica. Deste modo, as células de Langerhans expressam CD1a e quantidades variáveis de CD1c, enquanto o CD1b tem sido reportado nas células de Langerhans migratórias. Com isso, relata-se que o CD1a constitui o mais importante marcador na identificação das células de Langerhans no epitélio, e a expressão da molécula CD1a representa a primeira etapa da transição de uma célula precursora para uma célula de Langerhans propriamente dita (LINS et al., 2003).

A proteína S100 é ácida, ligada ao cálcio, descrita inicialmente como específica do tecido neural. Entretanto, tem sido encontrada nos melanócitos basais e células de Langerhans da epiderme humana normal (LINS et al., 2003).

Uma variação quantitativa ou qualitativa dessas células poderia determinar alteração na resposta imunológica, independente da contagem de linfócitos TCD4+ nas pacientes soropositivas para o HIV (LEVI et al., 2005; LINS et al., 2003; UCHIMURA et al., 2005; UCHIMURA et al., 2004 a, b, c). Evidências de depressão imunológica, com diminuição no número de células de Langerhans, têm sido associadas à progressão das lesões induzidas pelo HPV, já que o epitélio glandular da área que sofre metaplasia (área preferida pelo HPV) pode inibir a migração das células de Langerhans, tornando essa área como de risco para o desenvolvimento de neoplasia, não só pelo fato de ser local de instabilidade tecidual, mas também pela diminuição das células apresentadoras de antígenos (UCHIMURA et al., 2005; UCHIMURA et al., 2004 a, b, c). Tais resultados são compatíveis com Palaoro et al. (2002) que avaliaram a presença de células de Langerhans por meio do método imuno-histoquímico (anticorpo S100) em 22 cortes histológicos do colo uterino, sendo oito com lesão intra-epitelial de baixo grau, oito com lesão intra-epitelial de alto-grau e seis controles.

Observaram que o número de células de Langerhans decresceu à medida que aumentou o grau da lesão histopatológica. Acredita-se que a iniciação e a progressão de lesões determinadas pelo HPV estejam associadas com as alterações das células de Langerhans do epitélio escamoso das mucosas e com a presença de menor quantidade dessas células na zona da transformação do colo uterino (GIANNINI et al., 2002).

Entretanto, para que a resposta imunológica aconteça é necessária a interação das células de Langerhans com o tecido epitelial. Essa interação é mediada por uma molécula de adesão celular chamada E-caderina, dentre outras. As caderinas são proteínas transmembranas (BERX; VAN ROY, 2001; KNUDSEN; WHEELLOCK, 2005), cálcio dependentes (LODISH et al., 2000; MATOS et al., 2006), com função de promover adesão intercelular (KNUDSEN; WHEELLOCK, 2005). São moléculas que promovem a manutenção da arquitetura tecidual normal (MATOS et al., 2006). Existem mais de 40 caderinas diferentes conhecidas (LODISH et al., 2000). As caderinas mais estudadas são as caderinas E (epitelial), P (placentária) e N (neural), conhecidas como caderinas clássicas (ROWLANDS et al., 2000). Sabe-se que as células epiteliais normais expressam E-caderina, mas acredita-se que células tumorais possam ter uma expressão inapropriada dessa proteína. A E-caderina, como mediadora de adesão intercelular, impede que as células de um tumor primário se soltem e invadam locais próximos ou distantes (KNUDSEN; WHEELLOCK, 2005). Portanto, a redução da expressão dessas moléculas é um fator facilitador da disseminação das células tumorais (BRUNETTI et al., 2003; KNUDSEN; WHEELLOCK, 2005). Baseando-se nisto, sugere-se que a redução ou a ausência de expressão da E-caderina nos tumores possa servir como um indicador de prognóstico ruim. No entanto, trabalhos publicados mostram que há divergências a respeito da expressão das E-caderinas como fator prognóstico (KNUDSEN; WHEELLOCK, 2005). A expressão dessa molécula é regulada positivamente pelo TGF ("Transforming Growth Factor") e, portanto, sua ausência torna as células de Langerhans incapazes de fixar residência nos tecidos epiteliais. Acredita-se que o HPV seja o responsável pela diminuição da expressão da E-caderina e, assim, nos tecidos com lesão intra-epitelial escamosa e nos carcinomas escamosos a expressão da E-caderina é mais baixa do que nos tecidos normais (HUBERT et al., 2005; KAPLANIS et al., 2005). Relatam ainda Branca et al.

(2006) que a expressão da E-caderina diminui inversa e proporcionalmente ao grau da neoplasia intra-epitelial cervical ($p=0,0001$).

A inoculação do HPV ocorre durante a relação sexual com pessoas infectadas, sendo que o vírus penetra no hospedeiro através de microtraumatismos. As células basais tornam-se infectadas. O DNA do HPV se estabelece no núcleo da célula infectada, mas de forma episomal, ou seja, não integrado ao genoma do hospedeiro. Na camada basal da mucosa são expressos os genes precoces do HPV; genes com baixo número de cópias virais. À medida que progride a maturação celular, são expressos os genes precoces com grande quantidade de cópias virais. Nas camadas superficiais da pele se expressam os genes tardios que formam os vírions infectantes (STANLEY, 1998). Deste modo, na camada basal da epiderme existe replicação mínima do HPV e, como não ocorre lise celular e nem inflamação local, não há estímulo do sistema imune mediado pelas células de Langerhans localizadas preferencialmente na porção basal do epitélio. O atraso no reconhecimento do HPV é também responsável pela natureza recalcitrante das lesões cervicais (COX et al., 2003; PEREYRA et al., 2000; RIETHMULLER, 2006; RIETHMULLER et al., 2002).

O "gatilho" para o reconhecimento espontâneo do vírus pelo organismo não é conhecido. Macrófagos e monócitos liberam citocinas como IFN (interferon) alfa, beta e gama, TNF (fator de necrose tumoral) e várias interleucinas em resposta ao reconhecimento do HPV. As citocinas também atuam como quimioatrativos. Deste modo, monócitos ativados seguindo o gradiente de citocinas chegam ao local da infecção pelo HPV. Com isso, células dendríticas (Langerhans) apresentam este antígeno na superfície. Após esta apresentação, células T citotóxicas são ativadas, multiplicam-se e chegam ao local da infecção ocasionada pelo HPV (COX et al., 2003; PEREYRA et al., 2000).

Nos últimos anos, a literatura mundial tem relatado uma incidência aumentada de neoplasia cervical e anal em mulheres portadoras do HIV quando comparadas com a população em geral. Estas estimativas sugerem que as mulheres portadoras do HIV têm 10 vezes mais chance de desenvolver este tipo de neoplasia do que aquelas soronegativas (AHDIEH et al., 2001; DE SANJOSÉ; PALEFSKY, 2002; VERNON et al., 1993; WILLIAMS et al., 1994; WRIGHT Jr. et al., 1994). Em estudo realizado na Universidade John Hopkins, Estados Unidos, verificou-se que mulheres HIV positivas têm 1,8; 2,1 e 2,7 vezes mais

chances de ter HPV de alto, intermediário e baixo risco, respectivamente, quando comparadas com mulheres soronegativas (AHDIEH et al., 2001).

A interação HIV/HPV é importante porque o vírus da imunodeficiência humana (HIV) não infecta apenas as células do sistema imunológico, mas células que poderiam estar infectadas também pelo HPV, como as dendríticas da mucosa genital. Com isso, poderiam ser ativadas as proteínas E6 e E7 do HPV, determinando uma ação potencializadora na progressão das neoplasias induzidas pelo HPV (VERNON et al., 1993). Outro estudo com 1587 pacientes HIV positivas observou que 200 (12,6%) apresentaram diagnóstico citológico de lesão escamosa intra-epitelial ou carcinoma invasor. A progressão ocorreu em 39 casos, sendo que em 24 (61,5%) o primeiro diagnóstico foi de alteração benigna e o segundo foi de lesão intra-epitelial de baixo grau. Em 28,2% o primeiro diagnóstico foi de lesão intra-epitelial de baixo-grau e o segundo foi de lesão intra-epitelial de alto-grau (CALORE et al., 2001). Deste modo, acredita-se que a imunodepressão causada pelo vírus HIV facilite o desenvolvimento de anormalidades epiteliais na presença de infecção pelo HPV, tanto cervicais como anais (VOLTZ et al., 1999).

Estudo comparando pacientes soropositivas e negativas para o HIV, verificou que as lesões intra-epiteliais cervicais eram significativamente mais freqüentes e agressivas nas soropositivas (38%) que nas soronegativas (12%) ($p < 0,001$) (SONCINI; CONDEMI, 2003). Há ainda estudos que evidenciaram associação entre o grau da lesão intra-epitelial cervical e a imunossupressão induzida pelo HIV, sugerindo que quanto menor for a contagem de linfócitos TCD4+, maior o risco de ocorrer lesão intra-epitelial de alto grau (DUERR et al., 2006; PALEFSKY, 2006; SONCINI; CODEMI, 2003). Entretanto, outros estudos não demonstraram esta associação (COELHO et al., 2004; SOUZA et al., 2001). Estudo realizado na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais verificou que a contagem de linfócitos T CD4+ não se mostrou estatisticamente diferente, comparando-se mulheres infectadas pelo HIV que apresentaram neoplasia intra-epitelial cervical de baixo ou alto grau, com outro grupo sem lesão intra-epitelial cervical ($p = 0,98$) (ZIMMERMANN et al., 2006). Entretanto, a carga viral do HIV maior que 400 cópias/ml demonstrou associação positiva, com chance 3,2 vezes maior de desencadear lesão intra-epitelial cervical (ARAÚJO et al., 2005).

Uma possível explicação para esses resultados aparentemente contraditórios pode ser a utilização da HAART (medicação antiretroviral de alta potência) que, além de melhorar a resposta imunológica, diminui a carga viral do HIV e, conseqüentemente, bloqueia o ciclo do HPV nas células cervicais, facilitado pelo HIV (DELMAS et al., 2000; MAYAUD et al., 2001). Embora existam resultados divergentes na literatura, atualmente a maioria dos estudos aponta para a não associação entre o grau da neoplasia intra-epitelial cervical e a imunossupressão, especialmente após o advento da HAART (ZIMMERMMANN et al., 2006). Na França, estudo com 121 mulheres soropositivas para o HIV demonstrou que a HAART tem efeito protetor para recorrência de neoplasia cervical (RR = 0,3; IC a 95%: 0,1-0,7), inclusive para as lesões intra-epiteliais cervicais de alto grau (RR = 0,2; IC a 95%: 0,1-0,7) (HEARD et al., 2005). Outros estudos envolvendo pacientes soropositivas para o HIV também verificaram que a terapia anti-retroviral reduz o risco de neoplasia por restaurar a imunidade, ou seja, por melhorar a resposta imunológica das pacientes (DELMAS et al., 2000; MONINI et al., 2004). Entretanto, apesar de existirem evidências de que a HAART diminui a incidência de lesão intra-epitelial cervical em pacientes soropositivas para o HIV, a freqüência do câncer cervical não diminuiu desde o advento da HAART em 1996 (PIKETTY; KAZATCHKINE, 2005).

Por isso, algumas respostas para a interação HIV e HPV, bem como a evolução e progressão das neoplasias cervicais podem estar no efeito da imunidade local, mediada pelas células de Langerhans. Prakash et al. (2004) suspeitaram que as células apresentadoras de antígenos poderiam ser o alvo inicial do vírus da imunodeficiência humana durante a transmissão heterossexual. Recente estudo realizado por Hayati e Zulkarnaen (2007) verificou, através da marcação imuno-histoquímica para células de Langerhans com anticorpos CD1a e CD83, que as células de Langerhans imaturas (CD1a) diminuem à medida que há progressão da gravidade da neoplasia cervical quando comparadas com o epitélio normal. Por outro lado, as células de Langerhans maduras (CD83) aumentam na área peritumoral, numa tentativa imunológica de controlar a neoplasia intra-epitelial cervical, também quando comparadas com o epitélio escamoso normal. Entretanto, nos casos de carcinoma escamoso, essa contagem diminui quando comparada com as neoplasias grau III, o que sugere que apesar do organismo tentar lançar mão de mecanismos imunológicos de

proteção no controle das neoplasias intra-epiteliais cervicais, isso nem sempre é possível, o que poderá determinar a progressão desta neoplasia. As alterações na contagem de células de Langerhans também foram observadas em outros estudos (GONÇALVES et al., 2004; WALKER et al., 2005).

Baseado no exposto, torna-se evidente a necessidade de pesquisas associando a imunidade local às lesões induzidas pelo HPV em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV. Por isso, nos propusemos a quantificar as células de Langerhans nas lesões do colo uterino através da marcação com CD1a e S100 em pacientes portadoras e não-portadoras do vírus da imunodeficiência humana.

2. OBJETIVOS

- Quantificar e comparar as células de Langerhans ao longo do epitélio do colo uterino e na área da lesão histopatológica em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV.
- Avaliar a expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial nos dois grupos de pacientes.

3. PACIENTES E MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pelo COEP da Universidade Federal de Minas Gerais, pelo CEP da Faculdade de Medicina da UNIPAC (Universidade Presidente Antônio Carlos), pela Comissão de Ética do CTR – DIP e pela Comissão de Ética da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte.

a. Cálculo amostral e a divisão em grupos

Para estimar o número de pacientes necessárias ao trabalho proposto foi realizada revisão bibliográfica a fim de obter o percentual de células de Langerhans em pacientes soropositivas e negativas para o HIV. Considerando a literatura consultada, a contagem de células de Langerhans teve média de 2,0 células/campo em pacientes soropositivas para o HIV, e nas pacientes soronegativas 4,0 células/campo, uma diferença média de 2,0 células/campo (LEVI et al., 2005). Para um poder de detecção de 80% e erro alfa de 5%, a quantidade de pacientes necessárias para este estudo foi de 72 pacientes, sendo 36 em cada grupo.

Foram, então, estudadas 77 pacientes com diagnóstico de infecção pelo HPV diagnosticado pela biologia molecular, sendo 40 soropositivas para o vírus HIV (grupo 1) e 37 soronegativas para o HIV (grupo 2). Deste modo, todas as pacientes estudadas são portadoras do HPV, sendo que o fator de exposição investigado foi a infecção pelo HIV.

b. Anamnese e exame físico

Todas foram submetidas a um questionário que faz parte do protocolo de atendimento ginecológico e que inclui dados demográficos, uso de drogas, álcool, fumo e número de parceiros sexuais. Após a anamnese, as pacientes foram submetidas a exame ginecológico com realização de biópsia dirigida pela colposcopia, quando necessário, do seguinte modo:

b.1. Inspeção da genitália externa e interna

Na realização do exame ginecológico foi feita a inspeção da genitália externa e, após a colocação do espéculo vaginal, realizou-se a inspeção da genitália interna com coleta do material para identificação da presença do HPV.

b.2. Colposcopia

Para a colposcopia foi utilizado o colposcópio da marca Leisegang, modelo padrão. Inicialmente, o colo uterino foi focalizado sem aplicação de qualquer solução para se ter uma visão panorâmica do colo e fôrnices e surpreender anormalidades como as colorações anormais, lacerações e tumorações.

A seguir, aplicou-se ácido acético a 3%, banhando-se o vestíbulo vaginal e os fôrnices. O excesso de líquido foi enxugado com chumaço de algodão e sem esfregar a mucosa, evitando traumatismos. A mucosa cilíndrica do colo uterino apresentou-se róseo-avermelhada e de tonalidade variável. O epitélio escamoso normal apresentou tonalidade variando de róseo-pálida até róseo-avermelhada, quando normais à colposcopia. Nas áreas suspeitas de NIC ocorreu o aparecimento de manchas brancacentas com certa opacidade, bem delimitadas, denominadas de epitélio aceto-branco.

A seguir, iniciou-se a aplicação da solução de Schiller. Esta solução consta de iodo metalóide, iodeto de potássio e água fervida. Fez-se a embrocação da mucosa cérvico-vaginal de maneira generosa, objetivando-se detectar áreas da mucosa que não se coraram com a solução iodeto-iodetada. Quando o epitélio não captou o iodo ou o fez debilmente, o teste foi chamado de Schiller positivo, por outro lado, quando o epitélio escamoso se impregnou pelo iodo foi chamado de Schiller negativo.

Após a aplicação da solução de Schiller, fez-se a remoção com a solução de bissulfito a 5%. Este procedimento tornou as lesões mais evidentes, pois realçou a cor brancacenta, branco-palha ou fosca do epitélio aceto-branco com muito mais intensidade do que o produzido pelo ácido acético isoladamente. Deste modo, a colposcopia permitiu a seleção da região onde seria realizada a biópsia.

b.3. Biópsia de colo uterino

A biópsia foi feita sob visão colposcópica, selecionando-se o local de maior suspeita de neoplasias. Não utilizamos a pinça Pozzi para tracionamento do colo em função da maior possibilidade de sangramentos. A biópsia foi realizada com a pinça de Gaylor e o local escolhido para esta foi o de maior alteração colposcópica, representada pelo epitélio branco, mosaico, pontilhados e vasos atípicos. O material biopsiado foi fixado em formol a 10% e enviado aos Serviços de Patologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais e da Faculdade de Medicina de Barbacena. Foi considerado um fragmento adequado aquele que permitiu proporcionar tecido suficiente para o diagnóstico histopatológico.

c. Histopatologia

No laboratório de patologia, o material foi incluído em parafina e foram realizados cortes para o estudo histopatológico e imuno-histoquímico. Para este estudo, foi realizada uma reavaliação histopatológica por um mesmo patologista (MSF) com o objetivo de padronização do laudo. Como cervicite crônica foram classificadas as lesões que apresentavam importante infiltrado inflamatório mononuclear com tecido de granulação e fibrose do estroma. Para as lesões intra-epiteliais cervicais, utilizou-se a classificação de Richart (1973), do seguinte modo:

1. Neoplasia intra-epitelial cervical grau I (NIC I): Foram incluídas nesta categoria aquelas amostras teciduais que apresentavam histologicamente uma perda de polaridade celular, falta da normal estratificação epitelial, hiperplasia da camada basal que não excedeu a 1/3 da espessura do epitélio.
2. Neoplasia intra-epitelial cervical grau II (NIC II): Nesta categoria, foram incluídas aquelas amostras teciduais onde a perda de polaridade celular, falta da normal estratificação epitelial e hiperplasia da camada basal não excedeu a 2/3 da espessura do epitélio.

3. Neoplasia intra-epitelial cervical grau III (NIC III): Foram classificadas nesta categoria as lesões que apresentavam mais de 2/3 do epitélio acometido por células com pleomorfismo acentuado, cromatina granulosa e nucleomegalia acentuada. Neste grupo também foram incluídas as lesões que acometiam todo o epitélio, porém sem sinais de invasão.

Para cálculos estatísticos, entretanto, utilizou-se a classificação modificada por Wright (2002).

- a) Lesão intra-epitelial cervical de baixo grau (Lo Sil): onde se incluíram as neoplasias intra-epiteliais cervicais grau I e o efeito citopático produzido pelo HPV. Os critérios para diagnóstico histopatológico da infecção pelo HPV sem neoplasia intra-epitelial cervical foram: paraceratose, discariose, hiperkeratose, núcleos atípicos bi e multinucleação papilomatose e coilocitose.
- b) Lesão intra-epitelial cervical de alto grau (Hi Sil): onde se incluíram as neoplasias intra-epiteliais de graus II e III.

d. Imuno-histoquímica

Para o estudo imuno-histoquímico, os blocos de parafina foram encaminhados ao Laboratório de Patologia Mamária para corte e montagem das lâminas silanizadas. Nesse laboratório, as lâminas foram codificadas para que o observador não soubesse a origem das pacientes, ou seja, se eram de pacientes soropositivas ou soronegativas para o HIV.

Utilizou-se o anticorpo CD1a (*monoclonal mouse anti-human*) marca DAKO, clone 010, em diluição de 1:200. A escolha desta diluição foi feita após testes prévios realizados com diluições de 1:50, 1:100 e 1:200.

Em relação ao S100 (anticorpo policlonal), utilizou-se o da marca DAKO, diluição de 1:1200, após testes prévios realizados com diluições de 1:600; 1:800; 1:1200.

A E-caderina (*monoclonal mouse anti-human*) utilizada foi a da marca DAKO, clone NHC-38, com diluição de 1:400, também após testes prévios com diluições de 1:100; 1:200; 1:400 e 1:600.

Como controle das reações utilizou-se cortes previamente corados pelos anticorpos, oriundos de outros tecidos (mama, linfonodo e pele), bem como corte de colo uterino.

Para o processamento imuno-histoquímico foi utilizado o sistema de polímeros, não biotinilados, Novolink (Novocastra). A técnica utilizada foi padronizada pelo laboratório de Patologia Mamária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e encontra-se descrita a seguir:

1. **Preparação dos cortes histológicos:** Este procedimento consiste na desparafinização e hidratação que é feita utilizando o xilol e o etanol, com lavagem em água corrente destilada. Inicialmente, as lâminas foram desparafinizadas em estufa (60° C) por 25 minutos e, a seguir, mergulhadas em xilol frio por também 25 minutos. Foram, então, imergidas em álcool absoluto e realizados 3 banhos de 2 minutos cada. A seguir, as lâminas foram lavadas em água corrente e mergulhadas em água destilada.
2. **Recuperação ou Reativação antigênica:** A escolha do método de reativação antigênica seguiu as normas preconizadas pelo fabricante para os anticorpos testados. Utilizou-se a panela a vapor ("steamer") sendo as lâminas incubadas em tampão citrato previamente aquecido em microondas por 1 minuto. As lâminas foram levadas ao steamer por 25 minutos após atingir a temperatura de 98° C. A seguir, as lâminas foram colocadas para esfriar por mais 25 minutos e lavadas com água destilada.
3. **Neutralização da peroxidase e da proteína endógenas:** Foi realizada utilizando o "*peroxidase block*" já existente no kit de detecção da Novocastra. O *peroxidase block* foi colocado sobre as lâminas por 5 minutos. A seguir, lavou-se em tampão PBS 2x e incubou-se com a "*protein block*", também do kit da Novocastra por 5 minutos, seguidas de lavagem por tampão PBS por 2x.

4. **Incubação com o anticorpo primário, anticorpo secundário e polímero:** A seguir, procedeu-se a incubação com anticorpo primário por 30 minutos, com as seguintes diluições: CD1a (1:200); E-caderina (1:400) e S100 (1:1200). Procedeu-se, então, a lavagem em tampão PBS por 5 min (3x) e a incubação com o anticorpo secundário ("*post primary block*") por também 30 minutos e nova lavagem em tampão PBS por 5 min (2x). Finalmente, incubou-se com o polímero por 30 minutos e novamente lavou-se com tampão PBS por 5 min (2x).
5. **Revelação e montagem:** A seguir, procedeu-se a revelação onde se utilizou o DAB na concentração de 1 gota de cromógeno para cada ml de substrato. O DAB foi aplicado por 5 minutos e, após, as lâminas foram mergulhadas em água por 2 a 3 minutos. Fez-se a contra-coloração com hematoxilina de Harris e lavou-se em água corrente por 7 minutos. A seguir, realizou-se a desidratação em álcool e xilol, sendo 3 banhos de álcool e 2 de xilol. A seguir, as lâminas foram montadas utilizando lamínula e Ethelan. As etapas da imuno-histoquímica são apresentadas na FIG. 1.

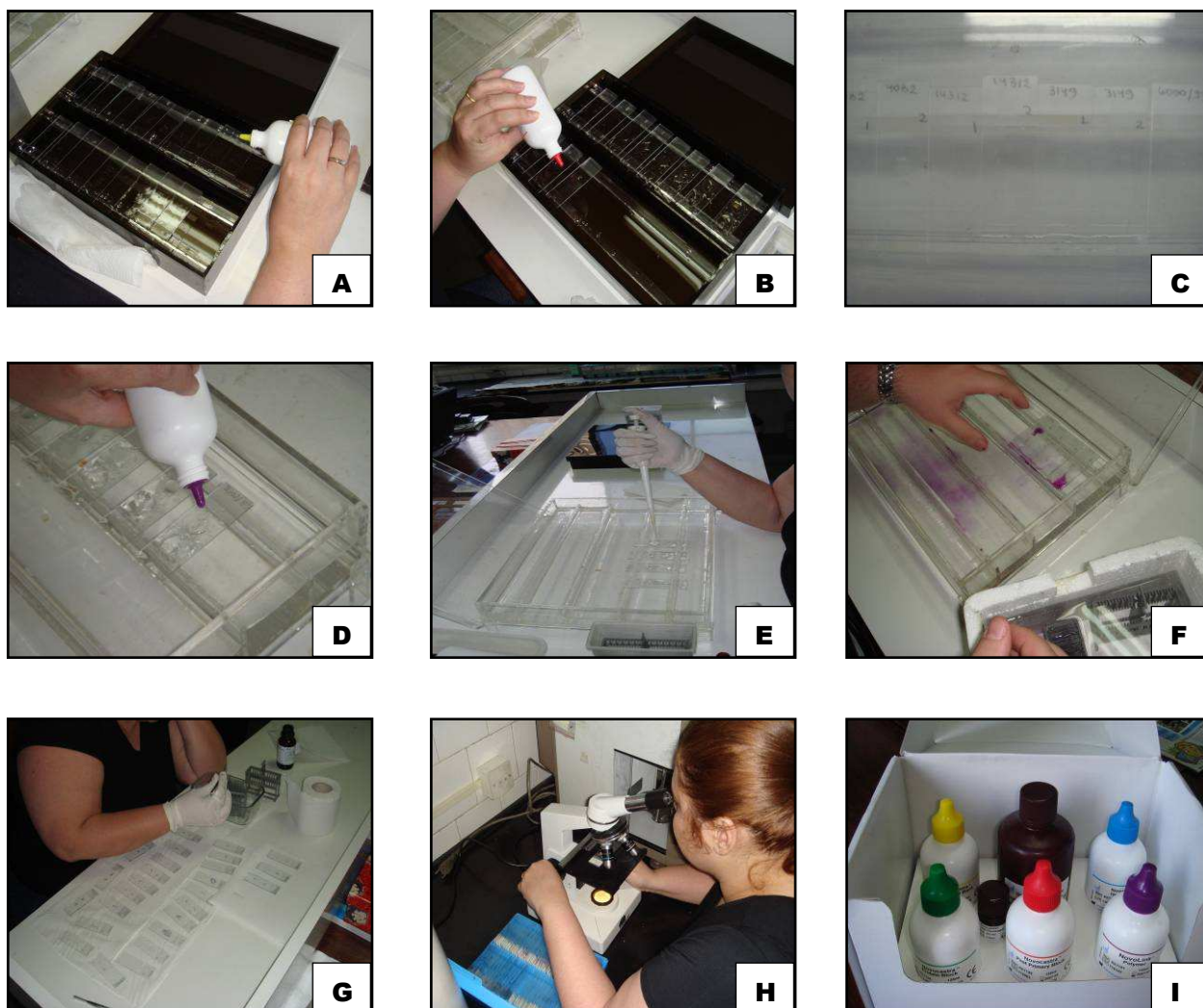


FIGURA 1. Etapas da Imuno-histoquímica: Bloqueio da Peroxidase Endógena (A), Bloqueio da Proteína Endógena (B), Incubação com anticorpo primário (C), Incubação com Polímero (D), Coloração com DAB (E), Contra-coloração com Hematoxilina de Harris (F), Montagem das lâminas (G), Avaliação Microscópica (H). O Kit de polímeros Novolink (I).

6. **Avaliação das reações imuno-histoquímicas:** A avaliação microscópica foi realizada utilizando microscópio óptico, com aumento de 400x. Todas as avaliações foram feitas por um único observador (JZ) e todos os casos duvidosos foram reavaliados por outro examinador (HG), utilizando microscópio de duas cabeças e análise simultânea por dois examinadores (JZ e HG). Os critérios empregados seguiram aqueles aceitos pela literatura e estão descritos a seguir:
- a. Avaliação do CD1a e S100: Avaliou-se, inicialmente, a melhor área para o estudo ("*hot spot*" = área com melhor marcação) e, a seguir, realizou-se a contagem das células de Langerhans por 5 campos, preferencialmente consecutivos. Entretanto, os campos ópticos que apresentavam áreas de dobras ou artefatos de descolamento foram excluídos, continuando a contagem no campo seguinte. Além disso, três biópsias tinham fragmentos exíguos, não sendo possível a contagem de 5 campos. Nestes casos, foi realizada contagem nos campos disponíveis. A média de campos avaliados para o CD1a foi de 4,75 campos e para o S100 foi de 4,99 campos. A contagem foi realizada também na área da lesão identificada pelo estudo histopatológico. Para a contagem das células de Langerhans marcadas pelo CD1a e S100, utilizou-se como critério a presença de célula marcada, cujo núcleo com prolongamentos ou parte do núcleo com prolongamentos eram evidentes. Não se incluiu na contagem células onde havia apenas prolongamentos corados e o núcleo não era visível ou núcleo isolado, sem prolongamentos (FIG. 2).
 - b. Para a avaliação da E-caderina na membrana da célula epitelial foram usados critérios propostos por DARAI et al. (2000), que utilizaram a expressão da E-caderina de acordo com a área epitelial corada, considerando os terços epiteliais marcados, conforme a FIG.3.

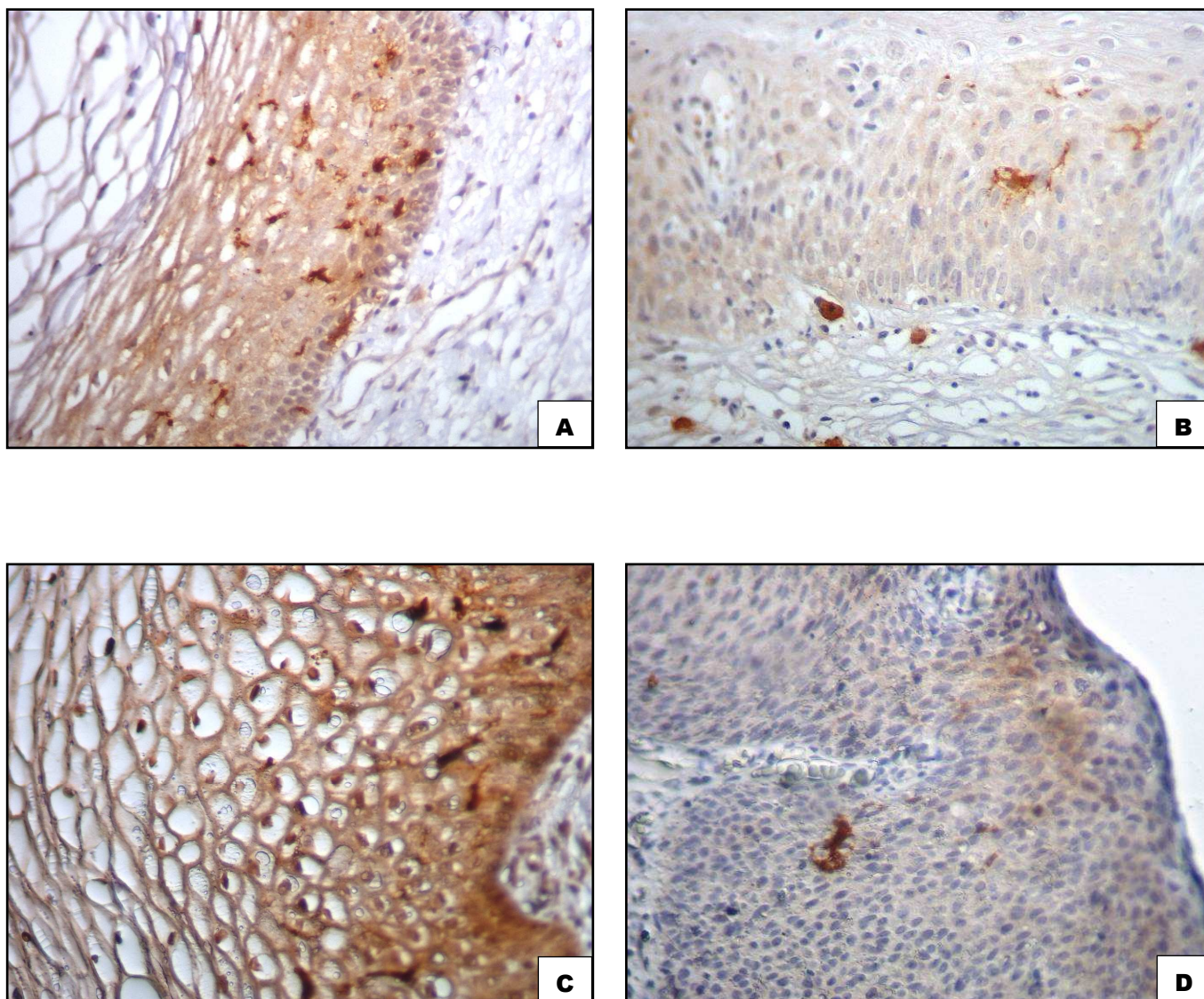


FIGURA 2. Identificação das células de Langerhans no epitélio cervical, através da marcação S100 (A,C) e CD1a (B,D), em 400x. Observam-se células de Langerhans com núcleo e prolongamentos, sendo as células que foram incluídas na contagem.

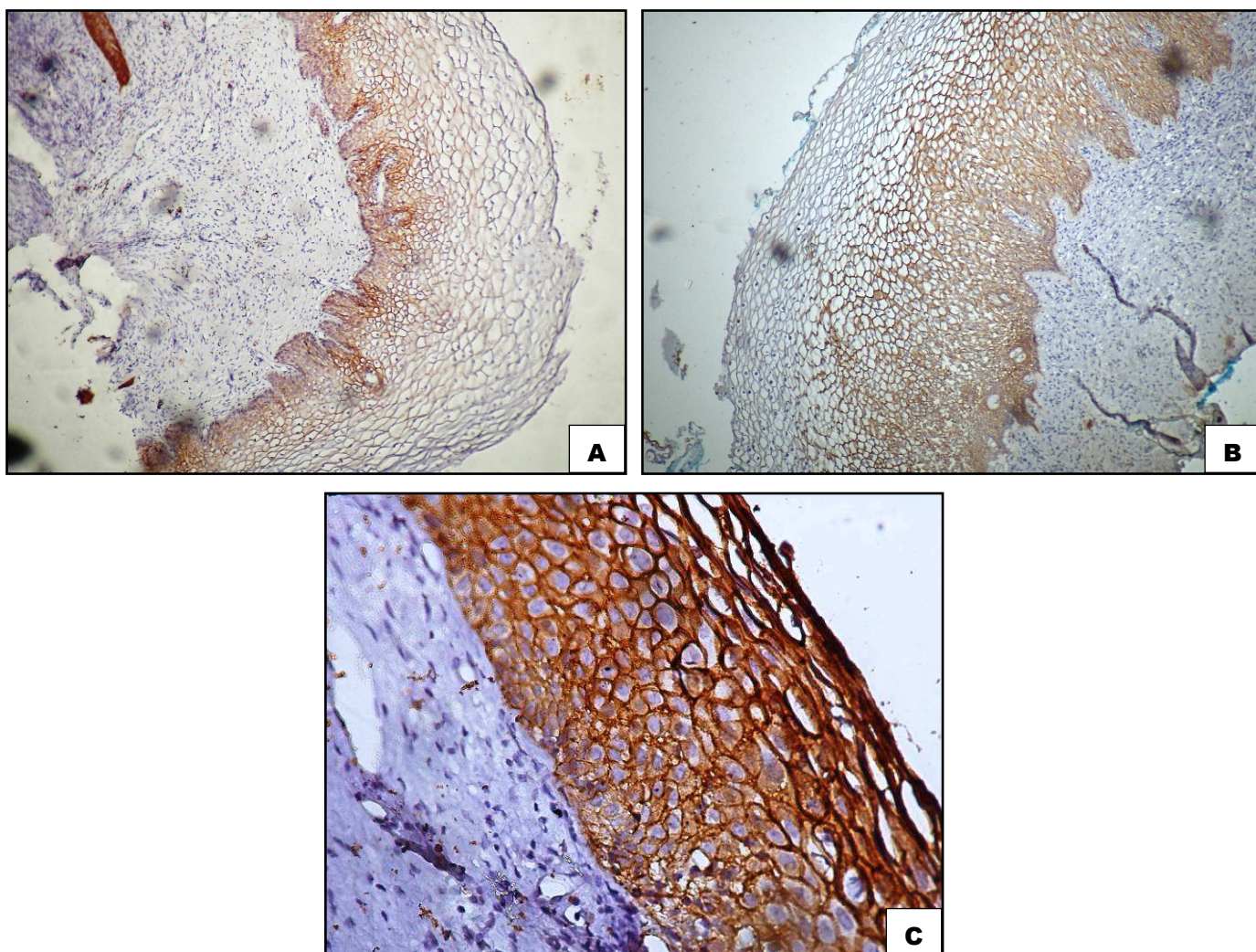


FIGURA 3. Expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial em 1/3 do epitélio cervical (A - 100x), em 2/3 do epitélio cervical (B- 100x) e em toda a espessura do epitélio cervical (C - 400x).

e. Contagem de leucócitos TCD4+ e carga viral para o HIV

A carga viral foi quantificada pelos testes Nuclisens HIV-1 RNA QT, tecnologia NASBA, técnica que amplifica os ácidos nucléicos baseada em seqüência (Organon Teknika, Turnhout, Belgium) e Quantiplex HIV RNA 3.0, tecnologia bDNA, técnica que utiliza moléculas de DNA ramificadas (Bayer System 340 bDNA Analyser, New York, USA).

A contagem de linfócitos T CD4+ foi realizada pela citometria de fluxo, técnica que utiliza anticorpos monoclonais e fornece a contagem absoluta pela emissão de luz (Becton Dickinson, Immunocytometry Systems, San José, CA, USA).

Ambos os exames foram realizados pelo Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG e foram utilizados os resultados mais próximos à realização da biópsia de colo uterino (≤ 3 meses).

f. Técnica de detecção molecular do HPV

A identificação do HPV foi feita através da técnica de PCR ou Captura Híbrida II (ZIMMERMANN et al., 2002). As amostras sem qualidade foram excluídas e as amostras positivas foram tipadas para os tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35, sendo que os genótipos 6 e 11 foram considerados de baixo risco e os demais foram considerados de alto risco. A utilização de dois exames para a identificação do HPV não prejudicou o estudo, considerando que apenas as pacientes positivas, ou seja, portadoras de HPV foram incluídas.

g. Método estatístico

As informações coletadas foram digitadas em um banco de dados desenvolvido no Epi Info versão 6.04. Os resultados descritivos apresentados foram obtidos através da listagem de freqüência das características das diversas variáveis e da obtenção de medidas de tendência central (média e mediana) e medidas de dispersão (desvio-padrão).

Este estudo apresentou quatro variáveis-resposta quantitativas e foi verificado se a distribuição das mesmas é normal ou não. No teste de Kolmogorov-Smirnov o valor-p acima

de 0,05 indica que a distribuição é normal. Isto foi observado na média de células de Langerhans ao longo de 5 campos e na área da lesão utilizando-se o marcador S100. As outras variáveis apresentaram distribuição não-gaussiana, conforme TAB.1

TABELA 1
Teste Kolmogorov-Smirnov

Variável		Média de células de Langerhans em cinco campos		Número de células na área da lesão	
		CD1a	S100	CD1a	S100
Marcador					
N		77	77	76	77
Paramêtros normais (a, b)	Média	1,64	2,38	2,87	4,0
	Desvio-padrão	1,46	1,83	2,90	3,2
Diferenças extremas	Absolutos	0,16	,130	,175	,137
	Positivo	0,16	,130	,175	,137
	Negativo	-0,13	-0,10	-0,16	-0,11
Kolmogorov-Smirnov Z		1,40	1,14	1,52	1,20
Valor-p (bi-caudal)		,039	,146	,019	,112
Conclusão (distribuição)		NG	Normal	NG	Normal

a- Distribuição do teste é normal; b- Obtidos a partir dos dados; NG = Não Gaussiana

Uma quinta variável resposta "E-caderina" é categórica-ordinal e foi transformada em dicotômica: presença da marcação somente no terço basal do epitélio x presença da marcação no terço médio ou terço superior do epitélio. A comparação entre a E-caderina e as outras variáveis categóricas foi realizada através de tabelas de contingência sendo utilizado o teste do qui-quadrado com correção de Yates (X^2 Yates) para comparação de proporções. Quando uma das freqüências esperadas foi menor que cinco, utilizou-se o teste de Fisher.

A análise univariada foi feita através do software Epi Info versão 6.04. Quando foi realizada a comparação entre as quatro variáveis-resposta quantitativas com as co-variáveis categóricas foi utilizado um teste não paramétrico (Kruskal-Wallis) quando a distribuição não foi simétrica ou o teste ANOVA quando a distribuição foi simétrica.

Na comparação das variáveis-resposta quantitativas com as co-variáveis quantitativas (idade, menarca, carga viral do HIV, contagem de linfócitos TCD4+) foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson, que tem o símbolo r . Este coeficiente fornece uma medida da força de relacionamento linear entre duas variáveis contínuas e varia de -1 a $+1$ passando pelo zero.

- Valores de r próximos de $+1$ indicam correlação positiva forte, que acontece quando a correspondência entre os valores das variáveis é elevada e o aumento dos valores de uma variável é acompanhado pelo aumento de outras variáveis.
- Valores de r próximos de -1 indicam correlação negativa forte onde também é observada uma boa correspondência entre os valores das variáveis, mas quando os valores de uma delas aumentam, os valores da outra variável diminuem.
- Valores de r próximos de zero indicam que os valores de uma variável não apresentam correspondência com os valores de outras variáveis.

O coeficiente de determinação r^2 indica que a porcentagem de variação de uma variável pode ser explicada pela variação de outra variável (ou vice-versa). Para as quatro variáveis-resposta quantitativas foi desenvolvido um modelo de regressão linear e para a variável E-caderina um modelo de regressão logística. Nestes modelos foram incluídas todas as variáveis com valor $p \leq 0,25$, chamado de modelo inicial. Em seguida, as variáveis não significativas ($p > 0,05$) foram retiradas segundo o maior valor de p , considerando-se ainda a significância clínica. Foi utilizado o pacote estatístico SPSS e adotado o nível de significância estatística de 5%.

h. Método bibliográfico

A revisão bibliográfica foi realizada através da Medline, Lilacs e livros citados em referências bibliográficas. Para a redação do texto foi consultado o Manual para Elaboração e Apresentação de Dissertação e Teses do Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. A normalização bibliográfica foi realizada utilizando as normas da ABNT (FRANÇA; VASCONCELLOS, 2007).

4. RESULTADOS

4.1. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS DAS PACIENTES ESTUDADAS

Das 77 pacientes estudadas, a média de idade foi de $31,0 \pm 8,7$ anos, sendo que a idade mínima foi de 17 anos e a idade máxima de 57 anos. Em relação à escolaridade, verificou-se que 29 pacientes (37,7%) tinham até o ensino fundamental, 31 pacientes (40,3%) o ensino médio e 17 pacientes (22,1%) tinham cursado o ensino superior. Não houve nenhum caso de paciente cursando pós-graduação. Identificou-se tabagismo em 16 pacientes (20,8%) e alcoolismo em duas pacientes (2,6%).

Em relação à vida sexual, 62 pacientes (80,5%) tinham vida sexual ativa e 15 pacientes (19,5%) estavam em abstinência sexual no momento. Em relação ao número de parceiros sexuais ao longo da vida, observou-se que 65 pacientes (84,4%) tiveram de 1 a 4 parceiros sexuais, 6 pacientes (7,8%) tiveram de 5 a 9 parceiros sexuais e 6 pacientes (7,8%) tiveram acima de nove parceiros sexuais.

Dentre os antecedentes relatados de DST, verificou-se, neste grupo: 7 pacientes (9,1%) com histórico de infecção pelo HPV, representada pelo condiloma genital, 3 pacientes (3,9%) com histórico de tratamento para gonorréia, 3 pacientes (3,9%) com antecedente de sífilis, 1 paciente (1,3%) com histórico de pediculose e 3 pacientes (3,9%) relataram antecedentes de outras DST's, (Trichomoníase, Hepatite B); 40 pacientes (51,9%) eram infectadas pelo HIV. Importante ressaltar que apenas 21 pacientes (27,3%) faziam uso de condon regularmente, ou seja, em todas as suas relações sexuais.

A idade média da menarca foi de $13,0 \pm 1,4$ anos, sendo que a idade mínima foi de 11 anos e a idade máxima de 19 anos. Entretanto, 64 pacientes (83,1%) relataram ciclo menstrual regular e 13 (16,9%) relataram ciclo menstrual irregular.

Em relação aos motivadores da consulta em nosso serviço, verificou-se que os mais freqüentes foram: exame de rotina (55,8%; n=43), fluxo genital (19,5%; n=15), dor pélvica (6,5%; n=5) e outros (18,2%; n=14). Dentre outros motivos encontrou-se: prurido vulvar

ou vaginal, irregularidade menstrual, dor mamária, ardor vaginal e vulvar, disúria e dispareunia.

Os dados clínicos, demográficos e comportamentais, considerando os grupos individualmente, são apresentados com os respectivos testes utilizados e valores de p ($<0,05$), conforme TAB. 2.

TABELA 2

Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas de acordo com os grupos e a comparação entre eles

Variáveis	Infecção pelo vírus da Imunodeficiência humana		Valor de p
	HIV+	HIV-	
Motivo da Consulta			
Exame de rotina	32,5% (n=13)	81,1% (n=30)	0,00026
Fluxo genital	32,5% (n=13)	5,4% (n=2)	
Dor pélvica	10,0% (n=4)	2,7% (n=1)	
Outros	25% (n=10)	10,8% (n=4)	
Ciclo menstrual regular			
SIM	72,5% (n=29)	94,6% (n=35)	0,02
NÃO	27,5 (n=11)	5,4 (n=2)	
Escolaridade			
Nenhum + Fundamental	72,5% (n=29)	0% (n=0)	<0,001
Médio + Superior	27,5 (n=11)	100% (n=37)	
Profissão			
Do lar	52,5% (n=21)	13,5% (n=5)	0,0007
Fora do lar + Estudante	47,5% (n=19)	86,5 (n=32)	
Vida sexual (no momento atual)			
Ativa	67,5% (n=27)	94,6% (n=35)	0,0067
Inativa	32,5% (n=13)	5,4% (n=2)	
Tabagismo			
Sim	37,5% (n=15)	2,7% (n=1)	0,0005
Não	62,5% (n=25)	97,3% (n=36)	

Das pacientes soropositivas para o HIV, 32 (80%) faziam uso de alguma medicação anti-retroviral em diferentes esquemas de combinação. Quando se avaliou o uso de condon nas pacientes com vida sexual ativa, verificou-se que, atualmente, as pacientes soropositivas

utilizam condon com maior frequência que as soronegativas ($p=0,02$; X^2 Yates= 5,56; OR= 4,31; IC=1,24-15,54).

4.2. GENOTIPAGEM

Todas as pacientes estudadas eram portadoras da infecção pelo HPV confirmado através da biologia molecular (PCR ou pela captura híbrida II). Foram identificados 12 casos de genótipos de baixo risco (15,6%), 51 casos de genótipos de alto risco (66,2%) e em 14 casos (18,2%) não foram identificados genótipos, apesar de o HPV ter sido detectado.

Quando comparamos os genótipos do HPV (que foram identificados) com a presença ou ausência de infecção pelo HIV, verificamos que as frequências de genótipos de baixo e alto risco foram similares nos dois grupos ($p=0,59$; X^2 Yates = 0,29), conforme TAB. 3 e GRAF. 1.

TABELA 3

Associação entre genótipos do HPV em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV

Genótipo do HPV	Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV)		TOTAL
	HIV+	HIV-	
Baixo Risco	8	4	12
Alto Risco	27	24	51
TOTAL	35	28	63

$p=0,59$; X^2 Yates =0,29; OR= 1,78 (0,41-8,6)

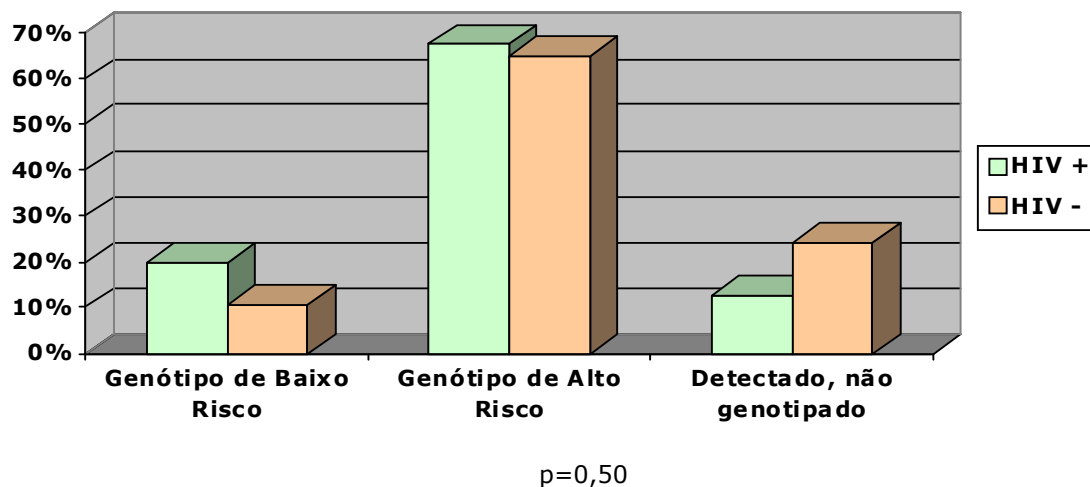


GRÁFICO 1. Comparação dos genótipos do HPV entre os dois grupos de pacientes avaliadas (soropositivas e soronegativas para o HIV)

4.3. HISTOPATOLOGIA

As 77 biópsias de colo uterino diagnosticaram 51,9% (n=40) de lesão de baixo grau, 39% (n=30) de lesão de alto grau e 9,1% (n=7) sem evidência de lesão intra-epitelial cervical, apenas cervicite crônica.

Nas pacientes soropositivas para o HIV, das 40 biópsias realizadas encontraram-se 19 casos de lesão intra-epitelial de baixo grau (47,5%), 16 de lesão intra-epitelial de alto grau (40%) e 5 casos (12,5%) de cervicite crônica. Nas soronegativas, das 37 biópsias realizadas, encontraram-se 21 casos de lesão intra-epitelial de baixo grau (56,8%), 14 casos de lesão intra-epitelial de alto grau (37,8%) e 2 casos de cervicite crônica (5,4%).

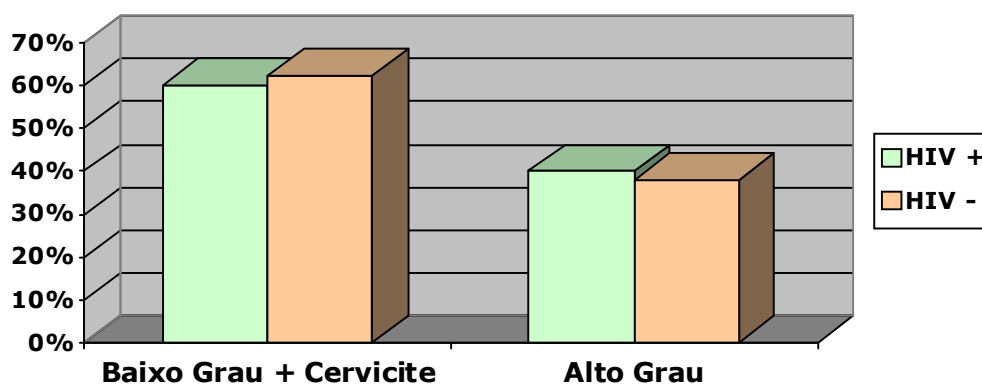
Para a avaliação estatística, foram agrupados os casos de cervicite com lesão intra-epitelial de baixo grau. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tipos de lesões encontrados nos dois grupos (p=0,96) (TAB. 4 e GRAF. 2).

TABELA 4

Associação entre lesão intra-epitelial cervical de alto-grau e infecção pelo HIV

Lesão intra-epitelial cervical de alto grau	Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana		TOTAL
	HIV +	HIV -	
SIM	16	14	30
NÃO	24	23	47
TOTAL	40	37	77

$p=0,96$; $X^2=0,0$; $OR=1,1$ (IC=0,4-3,0)



$p=0,96$

GRÁFICO 2. Comparação entre lesões do colo uterino diagnosticadas pela histopatologia em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV

4.4. GENÓTIPOS DO HPV E SUA ASSOCIAÇÃO COM O GRAU DAS NEOPLASIAS INTRA-EPITELIAIS CERVICAIS

Para esta associação, excluíram-se os casos de genótipos do HPV que não foram identificados. Os casos de cervicite crônica foram agrupados com os de lesão intra-epitelial de baixo grau.

A associação entre genótipos detectados do HPV e lesão intra-epitelial cervical foi considerada significativa, de forma que genótipos de baixo risco estavam associados à lesão intra-epitelial de baixo grau ($p=0,003$), mas os genótipos de alto risco apresentaram distribuição homogênea nas lesões de alto e baixo grau, conforme TAB. 5.

TABELA 5

Associação entre genótipos do HPV e lesão intra-epitelial cervical de alto-grau

Lesão intra-epitelial cervical de alto grau	Genótipos do HPV		TOTAL
	Baixo Risco	Alto Risco	
SIM	0	22	22
NÃO	12	29	41
TOTAL	12	51	63

BR=Baixo Risco; AR=Alto Risco; $p=0,003$ (Fisher Exact); OR=Undefined

4.5. A CARGA VIRAL DO HIV E A CONTAGEM DE LINFÓCITOS TCD4+ E SUA ASSOCIAÇÃO COM O GRAU DAS NEOPLASIAS CERVICAIS

Para a contagem de linfócitos TCD4+ foram obtidos 39 resultados, já que uma paciente não trouxe o resultado em tempo hábil. A média de TCD4+ foi de $306,8 \pm 250,8$ células/mm³, sendo que os valores mínimo e máximo foram respectivamente de 7 cel/mm³ e 1305 cel/mm³.

Selecionou-se a carga viral de 22 pacientes. As outras não foram incluídas por estarem distantes da data da biópsia. Dos resultados obtidos, a mediana foi de 1450 cópias

virais, sendo os valores mínimo e máximo respectivamente de 80 cópias virais/ml e 2.600.000 cópias virais/ml.

A associação entre carga viral para o HIV e histopatologia não foi considerada significativa ($p= 0,92$; Kruskal Wallis= 0,2), nem a associação entre contagem de linfócitos TCD4+ e histopatologia ($p=0,19$; Kruskal Wallis= 3,3).

4.6. IMUNO-HISTOQUÍMICA

4.6.1. A CONTAGEM DAS CÉLULAS DE LANGERHANS AO LONGO DO EPITÉLIO CERVICAL (CINCO CAMPOS CONSECUTIVOS)

A contagem média de células de Langerhans incluindo todas as pacientes ($n=77$) foi de $1,64 \pm 1,45$ células/campo considerando o marcador CD1a e para o marcador S100 foi de $2,38 \pm 1,83$ células/campo.

Nas pacientes soropositivas para o HIV, a média de células/campo marcadas pelo CD1a foi de $0,80 \pm 0,7$ células e pelo S100 a média de células/campo foi de $1,3 \pm 1,0$ células. Nas pacientes soronegativas para o HIV, a média de células/campo marcadas pelo CD1a foi de $2,6 \pm 1,6$ células e pelo S100 foi de $3,6 \pm 1,7$ células. A comparação entre os dois grupos mostrou que as pacientes soropositivas apresentam menor quantidade de células de Langerhans na mucosa cervical, quando comparadas com as soronegativas, independentemente do marcador utilizado, seja CD1a ($p=0,000000$; Kruskal Wallis=26,66) ou S100 ($p=0,000000$; Kruskal Wallis=31,56), conforme descrito na TAB. 6. A FIG. 4 e a FIG. 5 mostram a contagem de células de Langerhans em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV.

TABELA 6

Comparação entre a contagem de células de Langerhans em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV ao longo do epitélio cervical

Marcadores	Contagem de células de Langerhans nos campos ópticos						
	HIV	CM	C1	C2	C3	C4	C5
Langerhans/CD1a	negativa	2,6 + 1,6	3,1 + 2,1	2,7 + 1,8	2,1 + 1,7	2,4+ 2,3	2,2 + 1,8
Langerhans/CD1a	positiva	0,8 + 0,7	0,9 + 1,2	0,9 + 1,1	0,9 + 0,9	0,6+0,9	0,8+1,1
P		0,000000	0,000001	0,000003	0,002	0,0002	0,001
Langerhans/S100	negativa	3,6 + 1,7	4,5 + 2,8	3,6 + 2,1	3,5 + 2,3	3,4 + 2,4	3,0 + 1,8
Langerhans/S100	positiva	1,3 + 1,0	1,2 + 1,5	1,7 + 2,0	1,2 + 1,4	1,2 + 1,4	1,2+ 1,5
p		0,000000	0,000000	0,0002	0,000002	0,0002	0,000062

n=77 pacientes - C= campo óptico / CM = contagem média - Teste= Kruskal Wallis (equivalent to Chi Square)

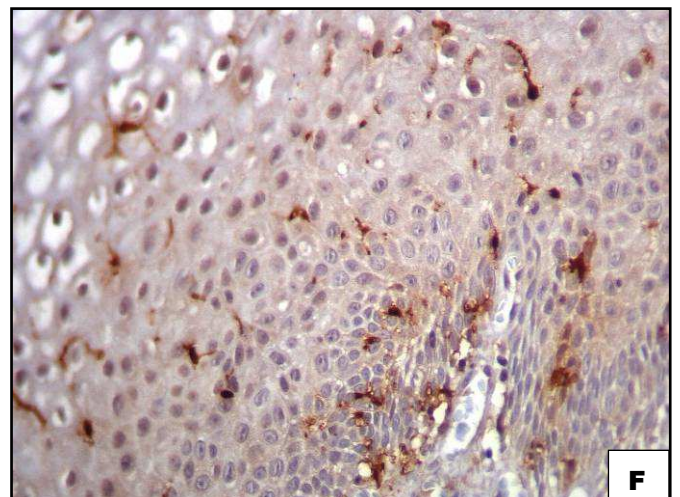
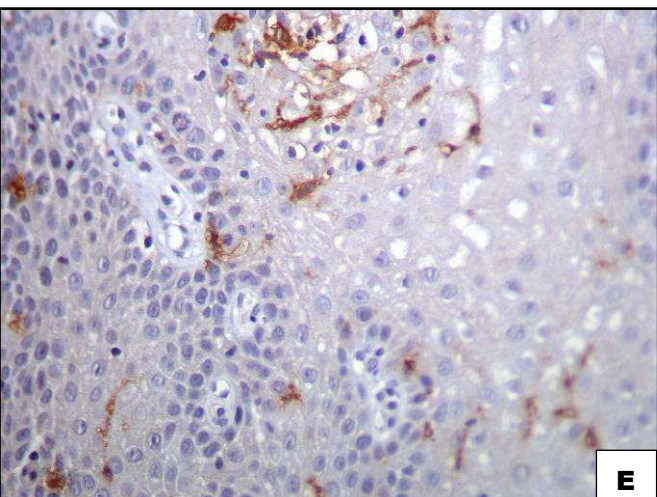
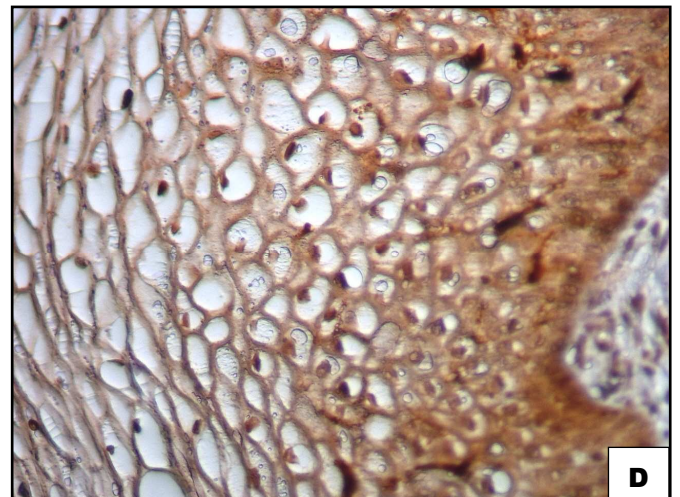
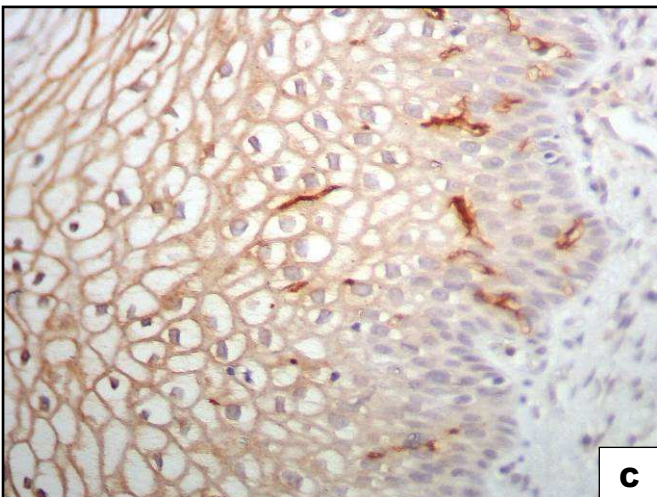
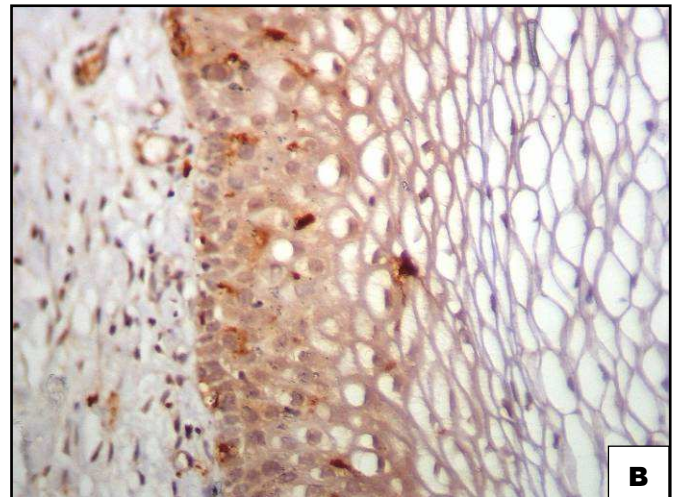
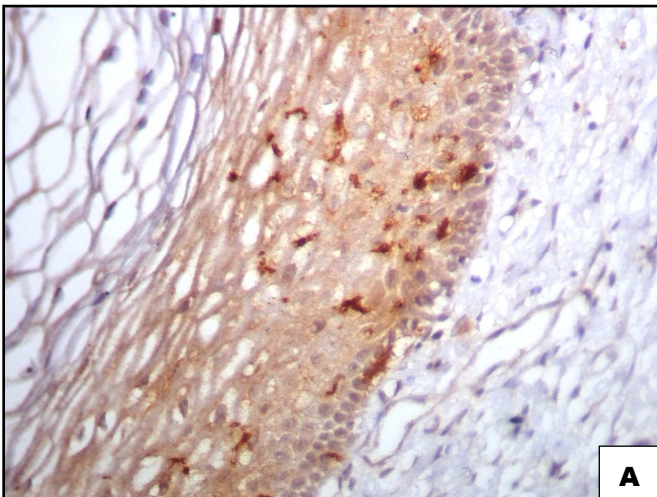


FIGURA 4. Marcação de células de Langerhans com CD1a (A, C, E) e S100 (B, D, F), fotografadas em aumento de 400x. Observa-se numerosas células de Langerhans em ambas as marcações, característica das pacientes soronegativas para o HIV.

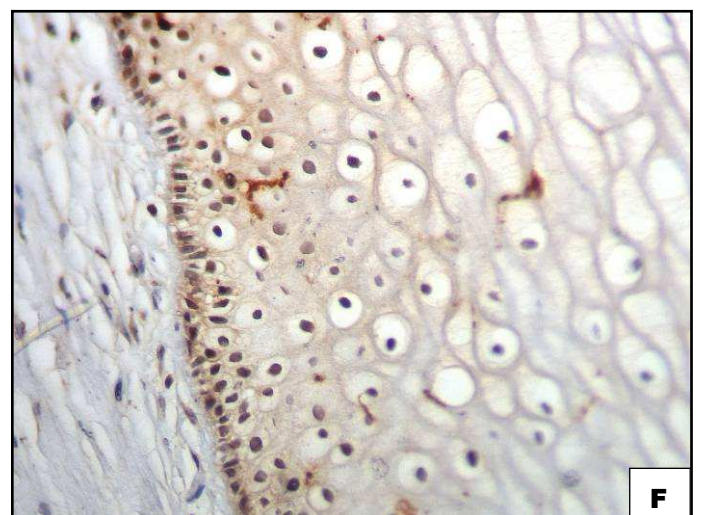
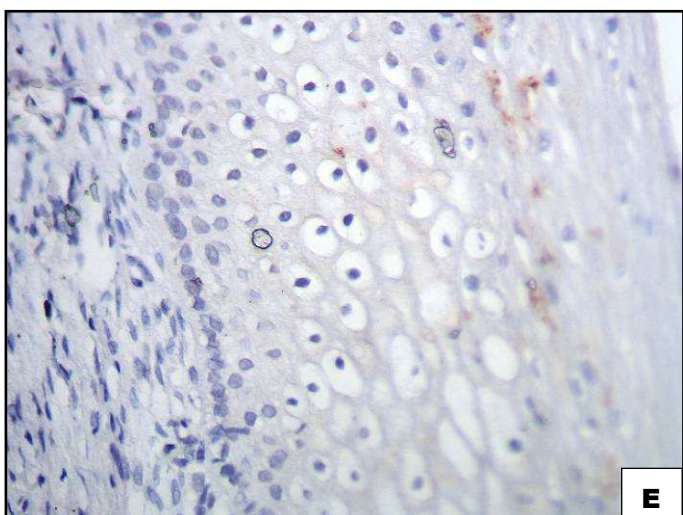
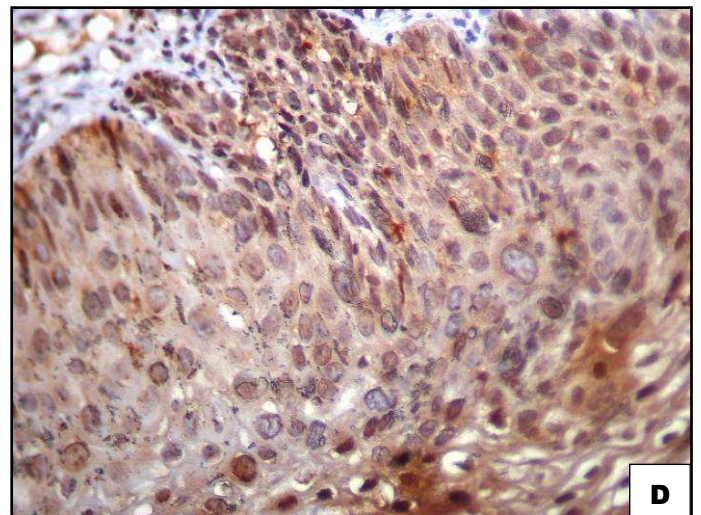
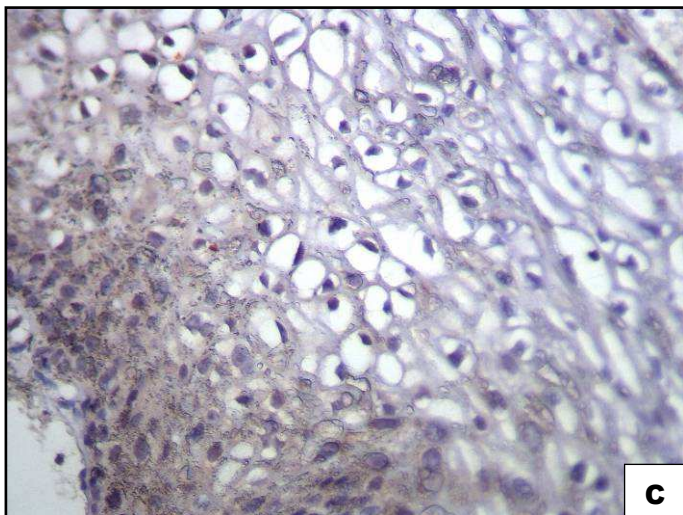
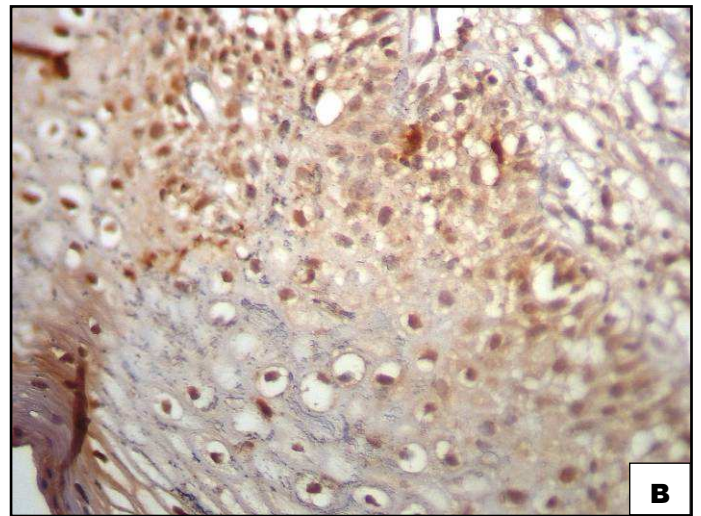
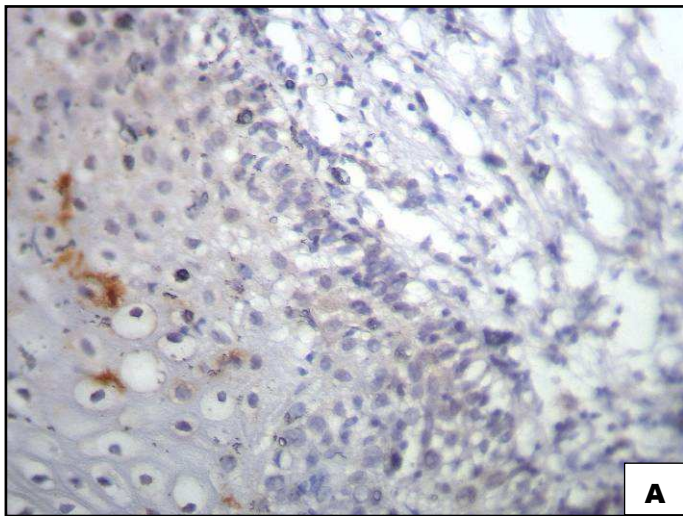


FIGURA 5. Marcação de células de Langerhans com CD1a (A, C, E) e S100 (B, D, F) fotografadas em aumento de 400x. Observa-se poucas células de Langerhans em ambas as marcações, característica das pacientes soropositivas para o HIV.

A fim de verificar outros fatores responsáveis pela redução do número de células de Langerhans no epitélio cervical, além da infecção pelo HIV, os dados clínicos, demográficos e comportamentais foram associados à contagem média das células de Langerhans marcadas por CD1a e S100.

As análises univariadas realizadas verificaram que a contagem de células de Langerhans, considerando o marcador CD1a, foi menor nas pacientes soropositivas para o HIV, com menor escolaridade, etilistas e usuárias de anti-retrovirais e contraceptivo ($p < 0,05$). A fim de analisar a independência destas variáveis na redução da contagem de células de Langerhans foi desenvolvido um modelo de regressão linear onde foram incluídas todas as variáveis com valor $p \leq 0,25$, descritas na TAB. 7, chamado de modelo inicial. Em seguida, as variáveis não significativas (descritas na TAB. 7a e TAB. 7b, em anexos) foram retiradas segundo o maior valor de p considerando-se ainda a significância clínica. A ordem de retirada das variáveis pode ser observada na TAB. 7c (anexos). A única variável com significância estatística foi a presença do HIV, sendo que as mulheres HIV soropositivas apresentam em média 1,76 menos células marcadas com CD1a que as mulheres HIV soronegativas. O modelo final pode ser observado na TAB. 8.

TABELA 7

Contagem das células de Langerhans ao longo do epitélio considerando o marcador CD1a e sua associação com os dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas.

Variáveis	Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana						
	HIV +	HIV –	Média	Dp	Mínimo	Máximo	p
Escolaridade							
Nenhum + Fundamental	29	0	0,8	0,7	0,0	2,0	<0,001
Médio + Superior	11	37	2,1	1,6	0,0	6,0	
Profissão							
Fora do lar	21	5	1,1	1,2	0,0	4,2	0,01
Do lar	18	25	1,7	1,9	0,0	5,0	
Estudante	1	7	3,1	1,9	0,6	6,0	
Vida sexual							
Ativa	27	35	1,8	1,5	0,0	6,0	0,21
Inativa	13	2	1,2	1,1	0,0	6,0	
Preservativo							
Sim	14	7	1,5	1,6	0,0	6,0	0,23
Não	26	30	1,7	1,4	0,0	5,0	
Tabagismo							
Sim	15	1	1,0	0,7	0,0	2,4	0,07
Não	25	36	1,8	1,6	0,0	6,0	
Etilismo doença							
Sim	2	0	0,2	0,0	0,2	0,2	<0,001
Não	38	37	1,7	1,5	0,0	6,0	
Ciclo menstrual regular							
Sim	29	35	1,8	1,5	0,0	4,2	0,06
Não	11	2	1,1	1,2	0,0	4,2	
Anti-retrovirais							
Sim	32	0	0,8	0,7	0,0	2,4	<0,001
Não	8	0	2,2	1,6	0,0	6,0	
Contraceptivo							
Nenhum	32	13	1,3	1,4	0,0	6,0	0,03
Hormonal	5	18	2,1	1,4	0,0	5,0	
Outros	3	6	1,1	0,8	0,4	2,2	
Motivo							
Exame de rotina	13	30	2,0	1,6	0,0	6,0	0,08
Fluxo genital	13	2	0,9	0,8	0,0	2,4	
Dor pélvica	4	1	1,2	0,6	0,6	2,0	
Outros	10	4	1,5	1,5	0,0	4,2	

Teste estatístico: Kruskal Wallis

TABELA 8

Modelo final de regressão linear para número médio de células de Langerhans marcadas com CD1a.

	Beta	Erro-padrão	Valor-p	IC95%	
				Inferior	Superior
Constante	2,55	0,19	<0,001	2,17	2,94
HIV	-1,76	0,27	<0,001	-2,29	-1,23

Os dados demográficos, clínicos e comportamentais das pacientes estudadas foram também comparados com a contagem de células de Langerhans ao longo do epitélio marcadas com S100. As análises univariadas realizadas para o marcador S100 determinaram associação com a infecção pelo HIV, com a baixa escolaridade, vida sexual, tabagismo, uso de anti-retroviral e motivo da consulta. A fim de analisar a independência destas variáveis na redução da contagem de células de Langerhans, foi desenvolvido um modelo de regressão linear onde foram incluídas todas as variáveis com valor $p \leq 0,25$, chamado modelo inicial (TAB. 9). Em seguida, as variáveis não significativas (descritas na TAB. 9a e TAB. 9b, em anexos) foram retiradas segundo o maior valor de p considerando-se ainda a significância clínica. A ordem de retirada das variáveis pode ser observada na TAB. 9c (anexos). A única variável com significância estatística foi a presença do HIV, sendo que as mulheres HIV positivas apresentam em média 2,3 células a menos que as mulheres HIV negativas, quando marcadas por S100 (TAB. 10).

TABELA 9

Contagem das células de Langerhans ao longo do epitélio considerando o marcador S100 e sua associação com os dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas.

	HIV +	HIV -	Média	Dp	Mínimo	Máximo	Valor-p
Escolaridade							
Nenhum +Fundamental	29	0	1,8	0,9	0,0	3,8	<0,001
Médio + Superior	11	37	3,1	1,9	0,0	7,5	
Profissão							
Fora do lar	21	5	1,9	1,5	0,2	7,0	0,04
Do lar	18	25	2,4	1,8	0,0	6,0	
Estudante	1	7	3,8	2,3	0,0	7,5	
Vida sexual							
Ativa	27	35	2,6	1,9	0,0	7,5	0,04
Inativa	13	2	1,5	1,5	0,2	4,8	
Ciclo menstrual							
regular							
Sim	29	35	2,6	1,9	0,0	7,5	0,06
Não	11	2	1,4	1,4	0,0	4,0	
Anti-retrovirais							
Sim	32	0	1,3	1,1	0,0	4,0	<0,001
Não	8	0	3,2	1,9	0,4	7,5	
Tabagismo							
Sim	15	1	1,4	1,0	0,6	4,0	0,02
Não	25	36	2,6	1,9	0,0	7,5	
Etilismo doença							
Sim	2	0	0,7	0,1	0,6	0,8	0,19
Não	38	37	2,4	1,8	0,0	7,5	
Estado civil							
Solteira	16	22	2,7	2,0	0,2	7,5	0,25
Casada + união estável	16	10	2,3	1,8	0,0	6,0	
Outras	8	5	1,8	1,3	0,0	3,8	
DST prévia							
Sim	12	5	1,8	2,0	0,0	7,0	0,17
Não	28	32	2,5	1,8	0,0	7,5	
Contraceptivo							
Nenhum	32	13	2,1	2,0	0,0	7,5	0,16
Hormonal	5	18	3,0	1,5	0,6	5,6	
Outros	3	6	2,0	0,4	1,6	2,6	
Motivo							
Exame de rotina	13	30	3,0	2,0	0,3	7,5	0,02
Fluxo genital	13	2	1,3	1,1	0,0	3,8	
Dor pélvica	4	1	2,2	1,3	0,8	4,0	
Outros	10	4	2,0	2,0	0,0	6,0	

Teste estatístico: ANOVA

TABELA 10

Modelo de regressão linear final para número médio de células de Langerhans usando marcador S100

	Beta	Erro-padrão	Valor-p	IC95%	
				Inferior	Superior
Constante	3,59	0,23	<0,001	3,13	4,06
HIV	-2,33	0,32	<0,001	-2,97	-1,70

4.6.2. A CONTAGEM DE CÉLULAS DE LANGERHANS NA ÁREA DA LESÃO HISTOPATOLÓGICA

A contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica foi realizada em 77 lâminas, entretanto, em um caso, considerando o marcador CD1a, não se obteve na lâmina a área da lesão identificada à histopatologia. Por isso, para o CD1a foram analisadas 76 lâminas e para o S100 foram 77 lâminas.

No grupo soronegativo para o HIV identificou-se média de $4,6 \pm 2,9$ células/lesão marcadas pelo CD1a, sendo o valor mínimo de 0 célula/lesão e o valor máximo de 13 células/lesão. Por outro lado, no grupo soropositivo para o HIV, verificou-se contagem média de $1,2 \pm 1,8$ células/lesão, marcadas pelo CD1a, sendo o valor mínimo de 0 célula/lesão e o valor máximo de 7 células/lesão. A comparação dos grupos mostrou $p=0,000000$ (Kruskal Wallis= 30,7), evidenciando que as pacientes soropositivas apresentam menor contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica.

No grupo soronegativo para o HIV identificou-se média de $5,7 \pm 3,2$ células/lesão, marcadas pelo S100, sendo o valor mínimo de 0 célula por lesão e o valor máximo de 12 células/lesão. Por outro lado, no grupo soropositivo para o HIV, verificou-se contagem média de $2,4 \pm 2,3$ células/lesão, marcadas pelo S100, sendo o valor mínimo de 0 célula/lesão e o valor máximo de 7 células/lesão. A comparação dos grupos mostrou que as pacientes soropositivas apresentam menor contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica ($p=0,000001$; F statistic= 28,1), conforme TAB. 11.

A TAB. 12 apresenta a contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica e ao longo do epitélio.

TABELA 11

Contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV

Marcadores	Pacientes	Contagem média na área da lesão histopatológica	p
Langerhans/CD1a	HIV +	1,2 ± 1,8	p=0,000000 Kruskal Wallis= 30,7
Langerhans/CD1a	HIV -	4,6 ± 2,9	
Langerhans/S100	HIV +	2,4 ± 2,3	p=0,000001 F statistic=28,1 (ANOVA)
Langerhans/S100	HIV -	5,7 ± 3,2	

TABELA 12

Contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica e ao longo do epitélio em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV

Marcadores	Pacientes	Média de Células de Langerhans no epitélio	Média de Células de Langerhans na área da lesão	Regressão linear r; (IC)
Langerhans CD1a	HIV +	0,8 ± 0,7	1,2 ± 1,8	r= 0,71; (IC= 0,31-0,65)
Langerhans CD1a	HIV -	2,6 ± 1,6	4,6 ± 2,9	
Langerhans S100	HIV +	1,3 ± 1,0	2,4 ± 2,3	r=0,66; (IC= 0,23-0,60)
Langerhans S100	HIV -	3,6 ± 1,7	5,7 ± 3,2	

r= coeficiente de correlação; IC= intervalo de confiança

Conforme tabela anterior, quando a contagem de células de Langerhans na área da lesão foi associada à contagem média de células de Langerhans ao longo do epitélio, representadas pelos marcadores S100 e CD1a, verificou-se que a contagem na área da lesão aumenta de forma diretamente proporcional ao aumento da quantidade de células de Langerhans ao longo do epitélio.

A fim de verificar outros fatores responsáveis pela redução do número de células de Langerhans na área da lesão histopatológica, os dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas foram associados à contagem de células de Langerhans, considerando o marcador CD1a e S100 na área da lesão histopatológica. Para analisar a independência destas variáveis foi desenvolvido um modelo de regressão linear onde foram incluídas todas as variáveis com valor $p \leq 0,25$, descritas na TAB. 13, chamado de modelo inicial. Em seguida, as variáveis não significativas (descritas na TAB. 13a e TAB. 13b, em anexos) foram retiradas segundo o maior valor de p , considerando-se ainda a significância clínica. A ordem de retirada das variáveis pode ser observada na TAB. 13c (anexos).

A única variável com significância estatística foi a presença de HIV. Na TAB. 14 podemos observar que, em média, as mulheres apresentaram 6,38 células na área da lesão. As mulheres HIV positivas apresentaram, em média, 3,4 células a menos quando marcadas por CD1a.

TABELA 13

Contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica, considerando o marcador CD1a, e sua associação com os dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas.

Dados das pacientes	Contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica						
	HIV +	HIV -	Média	Dp	Mínimo	Máximo	p
Escolaridade							
Nenhum + Fundamental	27	0	1,3	1,9	0,0	7,0	<0,001
Médio + Superior	12	37	3,8	3,0	0,0	13,0	
Profissão							
Fora do lar	20	5	1,9	2,2	0,0	7,0	0,07
Do lar	18	25	2,8	2,5	0,0	8,0	
Estudante	1	7	6,4	4,5	0,0	13,0	
Vida sexual							
Ativa	26	35	3,2	3,0	0,0	13,0	0,11
Inativa	13	2	1,7	2,0	0,0	7,0	
Condom							
Sim	13	7	2,5	3,4	0,0	10,0	0,22
Não	26	30	3,0	2,7	0,0	13,0	
Tabagismo							
Sim	14	1	1,6	1,7	0,0	5,0	0,08
Não	25	36	3,2	3,1	0,0	13,0	
Etilismo doença							
Sim	2	0	0,5	0,7	0,0	1,0	0,19
Não	37	37	2,9	2,9	0,0	13,0	
Ciclo menstrual regular							
Sim	28	35	3,2	2,9	0,0	13,0	0,01
Não	11	2	1,4	2,3	0,0	8,0	
Anti-retrovirais							
Sim	31	0	1,4	1,9	0,0	7,0	<0,001
Não	8	37	3,9	3,1	0,0	13,0	
Contraceptivo							
Nenhum	31	11	2,4	2,8	0,0	10,0	0,09
Hormonal	5	18	3,4	2,3	0,0	8,0	
Outros	3	8	1,3	1,5	0,0	3,0	
Motivo							
Exame de rotina	13	30	3,8	3,2	0,0	13,0	0,02
Fluxo genital	13	2	1,3	1,8	0,0	5,0	
Dor pélvica	4	1	2,0	1,0	1,0	3,0	
Outros	10	4	1,9	2,2	0,0	6,0	

Teste estatístico: Kruskal Wallis - N=76

TABELA 14

Modelo final de regressão linear para número médio de células de Langerhans na área da lesão histopatológica marcadas com CD1a.

	Beta	Erro-padrão	Valor-p	IC95%	
				Inferior	Superior
Constante	6,375	0,765	<0,001	4,85	7,90
HIV	-3,35	0,522	<0,001	-4,39	-2,31

Para o marcador S100, foram também comparados os dados clínicos, comportamentais e demográficos com a contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica e descritos na TAB. 15. Foi também desenvolvido um modelo de regressão linear onde foram incluídas todas as variáveis com valor $p \leq 0,25$, chamado de modelo inicial. Em seguida, as variáveis não significativas ($p > 0,25$) foram retiradas segundo o maior valor de p , considerando-se ainda a significância clínica (TAB. 15a e TAB. 15b, em anexos). A ordem de retirada das variáveis pode ser observada na TAB. 15c, em anexos.

A variável com significância estatística foi a presença da infecção pelo HIV. Na TAB. 16 podemos observar que, em média, as mulheres apresentaram 7,47 células na área da lesão marcadas com S100, entretanto, as mulheres HIV positivas apresentaram em média 3,4 células a menos.

TABELA 15

Contagem de células de Langerhans na área da lesão histopatológica, considerando o marcador S100, e sua associação com os dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas.

Dados das pacientes	Contagem das células de Langerhans na área da lesão histopatológica						p
	HIV +	HIV -	Média	Dp	Mínimo	Máximo	
Escolaridade							
Fundamental	29	0	2,2	2,3	0,0	7,0	<0,001
Médio + Superior	11	37	5,0	3,2	0,0	12,0	
Profissão							
Fora do lar	21	5	3,5	2,6	0,0	8,0	0,03
Do lar	18	25	3,8	3,3	0,0	10,0	
Estudante	1	7	6,8	3,6	0,0	12,0	
Vida sexual							
Ativa	27	35	4,3	3,3	0,0	12,0	0,10
Inativa	13	2	2,8	2,6	0,0	7,0	
Tabagismo							
Sim	15	1	3,1	2,7	0,0	7,0	0,22
Não	25	36	4,2	3,3	0,0	12,0	
Etilismo doença							
Sim	2	0	0,5	0,7	0,0	1,0	0,12
Não	38	37	4,1	3,2	0,0	12,0	
DST prévia							
Sim	12	5	3,0	2,7	0,0	8,0	0,15
Não	28	32	4,3	3,3	0,0	12,0	
Ciclo menstrual regular							
Sim	29	35	4,3	3,3	0,0	12,0	0,07
Não	11	2	2,6	2,4	0,0	7,0	
Anti-retrovirais							
Sim	32	0	2,3	2,4	0,0	7,0	<0,001
Não	8	37	5,2	3,2	0,0	12,0	
Contraceptivo							
Nenhum	32	11	3,4	3,2	0,0	12,0	0,11
Hormonal	5	18	5,1	3,4	0,0	10,0	
Outros	3	8	3,3	0,5	3,0	4,0	
Motivo							
Exame de rotina	13	30	4,8	3,2	0,0	12,0	0,06
Fluxo genital	13	2	2,7	2,9	0,0	10,0	
Dor pélvica	4	1	4,8	2,4	4,0	7,0	
Outros	10	4	2,8	3,2	0,0	10,0	

Teste estatístico: ANOVA

TABELA 16

Modelo de regressão linear final para número médio de células de Langerhans na área da lesão histopatológica marcadas por S 100.

	Beta	Erro-padrão	Valor-p	IC95%	
				Inferior	Superior
Constante	7,47	0,87	<0,001	5,73	9,21
HIV	-3,36	0,61	<0,001	-4,58	-2,14

4.6.3. A CONTAGEM DE CÉLULAS DE LANGERHANS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A CARGA VIRAL PARA O HIV E CONTAGEM DE LINFÓCITOS TCD4+ EM PACIENTES SOROPOSITIVAS PARA O HIV.

A contagem de células de Langerhans foi avaliada à carga viral para o HIV e à contagem de linfócitos TCD4+, mas não houve associação estatística, considerando os dois marcadores CD1a e S100 ($p>0,05$), conforme TAB. 17.

TABELA 17

Associação entre contagem de células de Langerhans, linfócitos TCD4+ e a carga viral do HIV.

Marcador	Langerhans ao longo do epitélio		Langerhans na área da lesão	
	CD1a	S100	CD1a	S100
LCD4	0,18	0,38	0,62	0,93
LCarga viral	0,52	0,14	0,17	0,21

L= escala logarítmica

4.7. E-CADERINA

No grupo de pacientes soronegativas para o HIV, foram obtidas 37 lâminas dos 37 blocos para a marcação por E-caderina. Entretanto, 10 lâminas foram descartadas por apresentarem artefatos, descolamento e inclinação ao corte tangencial que impediam a avaliação adequada do material. Das 27 lâminas analisadas, verificou-se 59,3% (n=16), com expressão em até 1/3 do epitélio, 11,1% (n= 3) com expressão em até 2/3 do epitélio e 29,6% (n=8) com expressão em até 3/3 do epitélio, ou seja, em toda a espessura do epitélio.

No grupo de pacientes soropositivas para o HIV, foram realizadas 40 lâminas dos 40 blocos para a marcação pela E-caderina. Entretanto, 3 lâminas foram descartadas por apresentarem artefatos, descolamento ao corte tangencial e inclinação que impediam a avaliação adequada dos cortes. Das 37 lâminas analisadas, verificou-se 45,9% (n=17) com expressão em até 1/3 do epitélio, 13,5% (n=5) com expressão até 2/3 do epitélio e 40,5% (n=15) em até 3/3 do epitélio, ou seja, em toda a espessura do epitélio. A expressão da E-caderina não foi diferente nos dois grupos ($p=0,57$), conforme TAB. 18. As FIG. 6, FIG. 7 e FIG. 8 ilustram a marcação da E-caderina no epitélio cervical.

TABELA 18

Expressão da E-caderina no epitélio cervical em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV

E-caderina	Portadora do HIV		Total
	SIM (+)	NÃO (-)	
1/3	17	16	33
2/3	5	3	8
3/3	15	8	23
Total	37	27	64

$p=0,57$; $\chi^2 = 1,13$

Embora não se tenha observado diferença na expressão da E-caderina nos dois grupos (HIV soropositiva e HIV soronegativa), observou-se diferença em relação ao tipo de lesão. No epitélio escamoso normal e nas lesões de baixo grau a expressão da E-caderina ocorreu no terço basal do epitélio. A expressão da E-caderina ocorreu em 2/3 de toda a espessura do epitélio nas lesões de alto-grau. ($p=0,0000001$; $\chi^2=36,6$), conforme TAB. 19.

TABELA 19

Associação entre expressão da E-caderina e lesão intra-epitelial cervical de alto grau.

E- caderina	Lesão Intra-epitelial Cervical de Alto Grau		Total
	Grau		
	SIM (+)	NÃO (-)	
1/3	2	31	33
2/3	6	2	8
3/3	19	4	23
Total	27	37	64

$$p = 0,0000001 ; \chi^2 = 36,6$$

Considerando que a marcação com E-caderina acompanha a gravidade histopatológica, optamos por agrupar as marcações da E-caderina, conforme TAB. 20.

TABELA 20

Associação entre expressão da E-caderina (após grupamento) e lesão intra-epitelial cervical de alto-grau.

E- caderina	Lesão Intra-epitelial Cervical de Alto Grau		Total
	SIM (+)	NÃO (-)	
2/3 e 3/3	25	6	31
1/3	2	31	33
Total	27	37	64

$$p < 0,0001 ; \chi^2 = 33,5; OR=64,6 (IC=10,3_538,4)$$

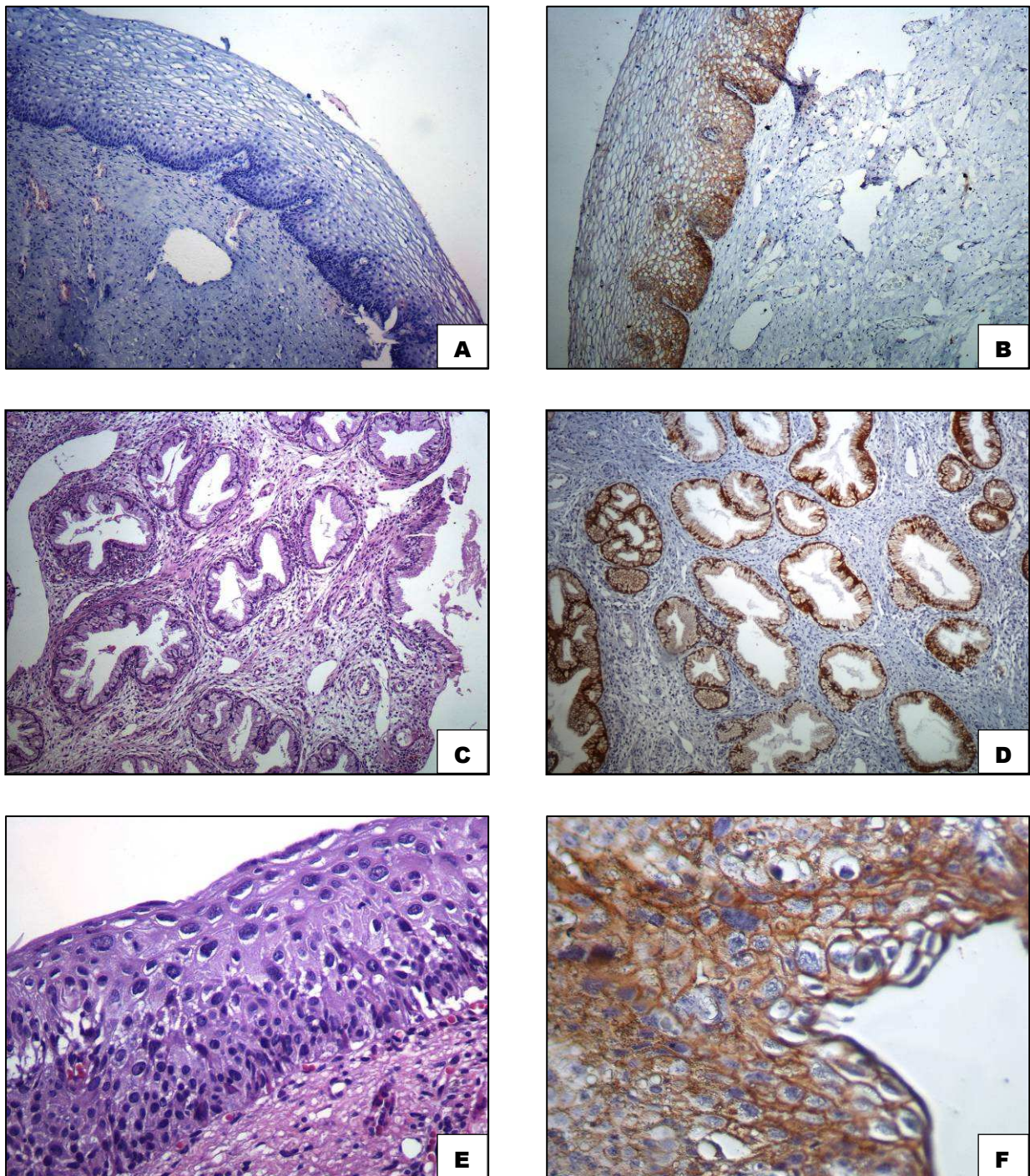


FIGURA 6. Expressão da E-caderina no epitélio cervical normal e alterado: Identificação do epitélio escamoso normal com HE (A) e expressão da E-caderina no epitélio escamoso normal (B). Identificação do epitélio glandular com HE (C) e expressão da E-caderina no epitélio glandular normal (D). Identificação de lesão intra-epitelial cervical de alto-grau no HE (E) e expressão da E-caderina nas lesões de alto-grau (F).

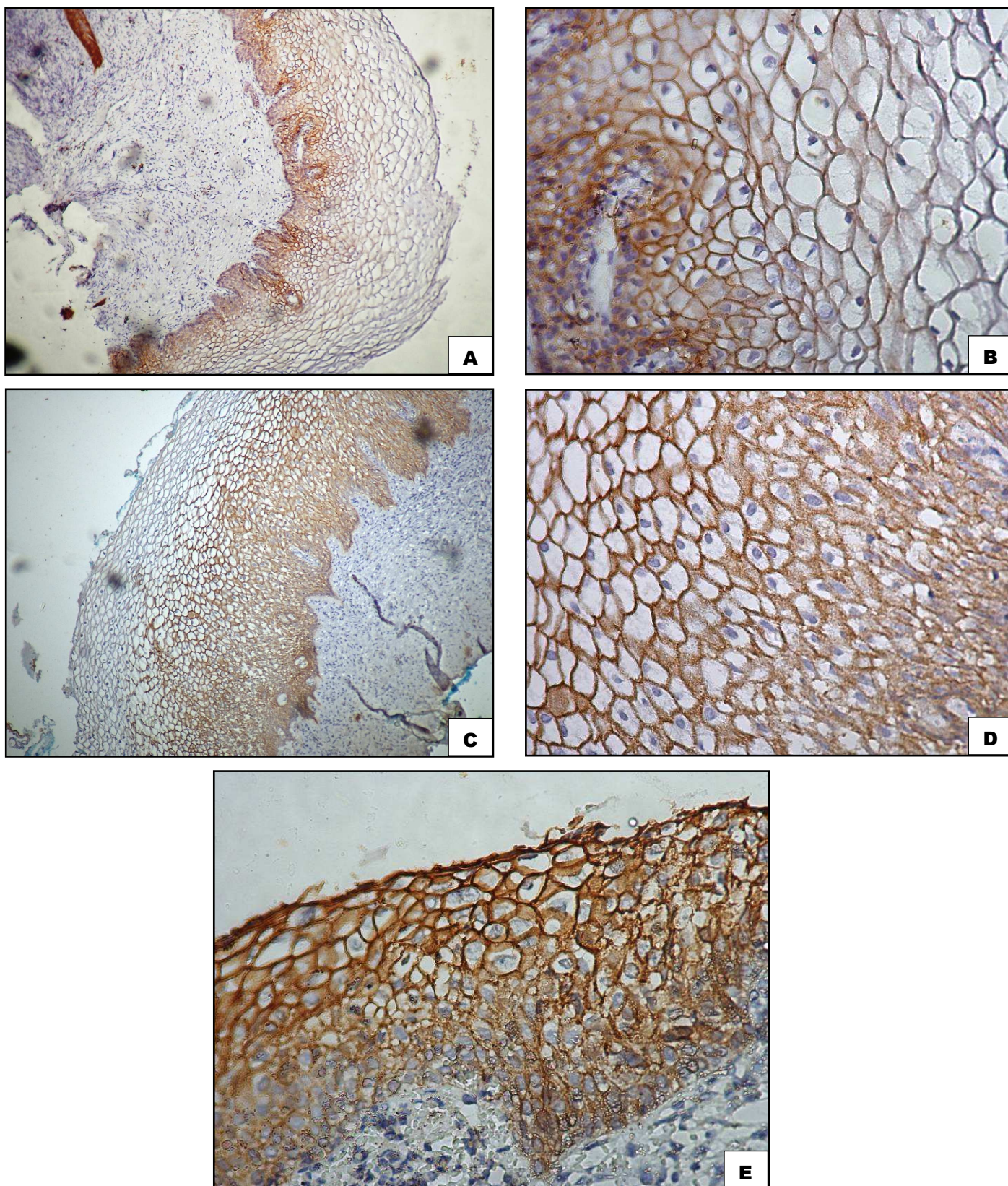


FIGURA 7. Expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial em 1/3 do epitélio (A-100x; B-400x), em 2/3 do epitélio (C-100x; D-400x) e em toda a espessura do epitélio (E-400x).

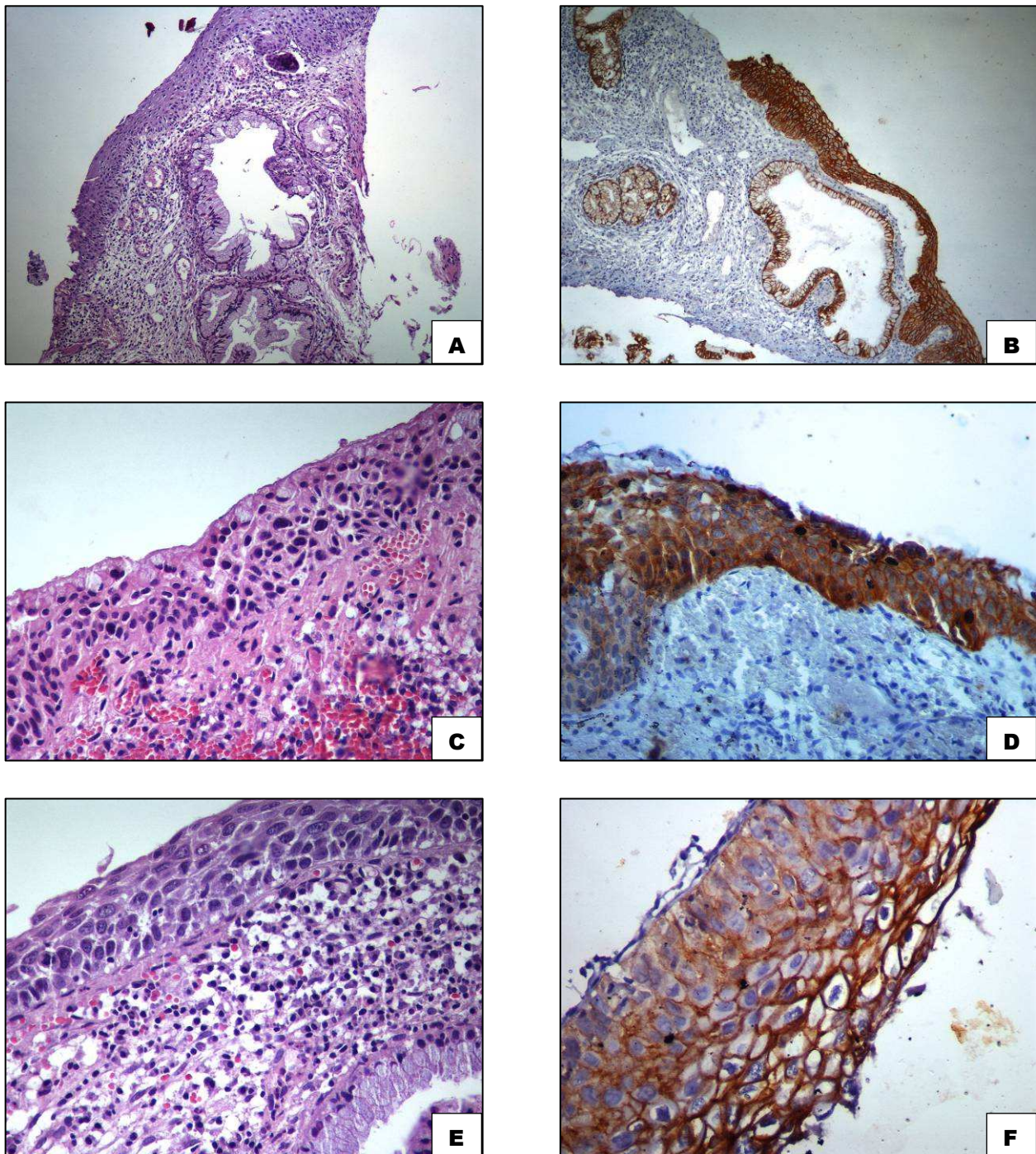


FIGURA 8. Expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial (B, D, F) e comparação com o corte corado com HE (A, C, E). Em todos os casos identificou-se lesão intra-epitelial de alto-grau (HE) e marcação da E-caderina em toda a espessura do epitélio. Observa-se em (D) expressão da E-caderina também no citoplasma da célula.

Os dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas foram comparados com a expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial e os resultados com $p \leq 0,25$ foram apresentados na TAB. 21. Para isso, foi desenvolvido um modelo de regressão logística onde foram incluídas todas as variáveis com valor $p \leq 0,25$, chamado de modelo inicial. Em seguida as variáveis não significativas (TAB. 21a e TAB. 21b, em anexos) foram retiradas segundo o maior valor de p , considerando-se ainda a significância clínica. A ordem de retirada das variáveis pode ser observada na TAB. 21c. O modelo final encontra-se descrito na TAB. 22.

TABELA 21

Comparação dos dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com a marcação das células epiteliais cervicais com E-caderina

	Marcação pela E-caderina				p	OR	IC
	3/3 + 2/3		1/3				
	N	%	N	%			
Profissão							
Fora do lar	8	25,8	15	45,5	0,19		
Do lar	20	64,5	14	42,4			
Estudante	3	9,7	4	12,1			
Histopatologia Alto Grau							
Sim	25	80,6%	2	6,1%	<0,001	64,6	10,3-538,4
Não	6	19,4%	31	93,9%			
Preservativo							
Sim	11	35,5	6	18,2	0,20	2,48	0,68 a 9,28
Não	20	64,5	27	81,8			

TABELA 22

Modelo de regressão logística final para marcação com E-caderina

	Valor-p	OR	IC95%
Não usar preservativo	0,05	6,97	1,0 a 47,6
Histopatologia de alto grau	<0,001	143,6	14,2 a 1454,6

DISCUSSÃO

Os dados epidemiológicos das pacientes estudadas demonstram que em relação à escolaridade, as pacientes HIV positivas eram as que tinham menor escolaridade. Esses resultados são compatíveis com os citados na literatura sobre a infecção pelo HIV, já que no Brasil são as pessoas mais carentes economicamente as que são também desprovidas de educação formal, talvez pela dificuldade de acesso ao ensino público e gratuito. Neste contexto, alguns autores relatam que nos últimos dez anos, a epidemia da AIDS no Brasil vem se caracterizando pela pauperização, feminização e interiorização. Com isso, há um direcionamento da doença no país, com expansão do HIV/AIDS em municípios de pequeno porte, no interior dos estados, em regiões que se caracterizam pela pobreza e escassez de recursos e nosso serviço é referência na cidade e região para o atendimento destas pacientes. Outros estudos também observaram que a epidemia de AIDS no Brasil se iniciou nos estratos de maior escolaridade, mas, hoje, se distribui naqueles de menor escolaridade, principalmente no sexo feminino, por meio de exposição heterossexual e uso de drogas injetáveis (FONSECA et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2007).

Em relação ao comportamento sexual, o uso de condon, número de parceiros sexuais e antecedentes de DST não foram diferentes nos dois grupos, fato esperado considerando que todas as pacientes contraíram pelo menos uma DST, já que todas eram portadoras do vírus HPV. Entretanto, estes resultados são preocupantes considerando que a utilização de preservativo ainda não é uma prática rotineira, já que 81,1% no grupo de pacientes soronegativas para o HIV não utilizavam condon em suas relações sexuais. Acreditamos que a visão equivocada do "sexo-seguro" seja um dos principais motivadores para a não utilização de preservativo. Outros estudos também demonstraram baixa utilização de condon na população feminina, com prática sexual desprotegida em até 77%, principalmente para as casadas e com parceiros fixos por acreditarem que praticam sexo seguro. Além disso, o uso de preservativo esteve atrelado ao tempo de relacionamento e ao envolvimento emocional e, deste modo, a negociação do preservativo com os parceiros é uma situação ainda difícil para as mulheres (TRINDADE; SCHIAVO, 2001). Com isso, relata-se que nos relacionamentos heterossexuais, as mulheres, em sua maioria, tendem a manter

relações sexuais exclusivas com seus parceiros, embora a recíproca nem sempre seja verdadeira. Chama a atenção o perigo dessa forma de se ver no relacionamento com o parceiro, pois, por acreditar em sua exclusividade como parceira sexual, não o percebem como risco para a infecção pelo HIV (PRAÇA; LATORRE, 2003). Entretanto, quando se selecionou apenas as pacientes com vida sexual ativa, verificou-se que a utilização de condon foi mais freqüente nas pacientes soropositivas para o HIV, o que sugere uma mudança no comportamento sexual dessas pacientes após a aquisição da infecção pelo HIV. O mesmo aconteceu em relação à abstinência sexual no momento, que foi maior no grupo soropositivo. Entretanto, ainda se verifica que hoje existem mulheres desempenhando comportamento sexual inseguro, o que poderá determinar futura infecção pelo HIV (GIR et al., 2004).

O tabagismo foi mais freqüente no grupo soropositivo para o HIV, o que é compatível com os dados citados na literatura em relação ao comportamento dessas pacientes associado ao uso de drogas e tabagismo. Não houve diferença em relação ao alcoolismo nos dois grupos. A irregularidade do ciclo menstrual foi mais comum no grupo soropositivo para o HIV e acredita-se que possa estar associada ao uso da medicação anti-retroviral (MELO et al., 2003; ZIMMERMANN, 2002b; ZIMMERMANN et al., 2006).

Em relação aos motivadores das consultas em nosso serviço, verificou-se que as doenças ginecológicas foram mais freqüentes nas pacientes soropositivas para o HIV e, deste modo, foram os motivadores dessas consultas. Tais resultados são compatíveis com os citados em outros trabalhos, que verificaram que o principal motivo para uma mulher infectada procurar assistência médica parece ser o desenvolvimento de infecção ginecológica. Além disso, a candidíase recorrente, infecção genital crônica pelo vírus do herpes simples, sífilis e doença inflamatória pélvica com incidência elevada de abscesso tubo-ovariano podem ser manifestações iniciais de mulheres HIV soropositivas, que justificam a pesquisa do vírus naquelas com status sorológico desconhecido (MELO et al., 2003; SPINILLO et al., 2006; ZEGER; HOLT, 2003). Outro estudo, realizado a fim de verificar a freqüência de infecções genitais em mulheres com HIV, constatou em 33 (73,3%) casos a presença de microrganismos sugerindo infecção genital, com freqüência maior de *Candida*

em 17 casos (37,7%), seguido por *Gardnerella vaginalis* e *Ureaplasma Urealyticum* com 13 casos (28,8%) (HENRIQUES et al., 2007).

Em relação ao genótipo do HPV e o grau da lesão histopatológica, identificou-se que o HPV de baixo risco esteve associado à lesão de baixo grau. Por outro lado, os genótipos de alto risco encontram-se em qualquer tipo de lesão intra-epitelial cervical, fato comparável ao citado na literatura médica (ARAÚJO et al., 2005; CAMPOS et al., 2005; ZIMMERMANN, 2002 a, b).

Quando se avaliou a contagem de células de Langerhans nos dois grupos, verificou-se que as pacientes soronegativas apresentaram ao longo do epitélio uma quantidade maior dessas células quando comparadas com o grupo soropositivo. Estes resultados foram evidenciados nas duas marcações realizadas (S100 e CD1a), sendo comparável a outros estudos da literatura médica. Estudo realizado na Universidade de Pávia (Itália) verificou que a contagem de células de Langerhans realizada por meio do marcador S100 era menor no grupo soropositivo para o HIV (SPINILLO et al., 1993). Outro estudo verificou que a contagem média de células de Langerhans em pacientes soropositivas para o HIV com carga viral detectável foi de 4 células por campo e nas pacientes com carga viral indetectável para o HIV, a contagem de células de Langerhans foi de 1,9 células/campo, o que evidencia que a infecção pelo HIV é um fator determinante na redução das células de Langerhans (LEVI et al., 2005). Pesquisa recente realizada na vulva de pacientes soropositivas para o HIV verificou que a contagem média de células de Langerhans identificada através do marcador S100 foi de 5,82 no grupo soropositivo e de 9,86 no grupo soronegativo ($p=0,0026$) (TAUBE et al., 2007). Esta redução poderia explicar a maior frequência de neoplasia cervical nas pacientes soropositivas para o HIV, já que se acredita que estas células migrem de área sem neoplasia para área com neoplasia a fim de tentar controlá-la. Deste modo, a menor quantidade destas células poderia não apenas determinar a neoplasia, mas até mesmo permitir a sua progressão (CAMPANER et al., 2007).

Sikorski et al. (2005) relatam que a regressão da neoplasia cervical encontra-se associada ao incremento da contagem das células de Langerhans. Em nosso estudo, a quantidade de células de Langerhans existente na lesão foi diretamente proporcional à quantidade dessas células ao longo do epitélio. Quanto maior quantidade de células de

Langerhans ao longo do epitélio, maior a quantidade de células que podem migrar para a área da lesão. O esgotamento imunológico local determinaria a progressão das lesões (CAMPANER et al., 2007; HAYATI; ZULKARNAEN, 2007; SIKORSKI et al., 2005). Deste modo, quando comparamos a contagem de células de Langerhans marcadas por CD1a e S100 nos dois grupos, a menor contagem no grupo soropositivo é inequívoca e compatível com a literatura (WALKER et al., 2005).

Em nosso estudo, verificou-se que a contagem das células de Langerhans marcadas por S100 foi maior que as marcadas pelo CD1a. Isto pode ser explicado considerando-se que o anticorpo CD1a é um anticorpo monoclonal e identifica as células de Langerhans em seu estágio inicial de maturação. Entretanto, quando a célula de Langerhans se transforma em célula madura, ela passa a expressar em sua superfície o marcador CD83. Deste modo, o CD1a marcaria apenas estas células em seu estágio de maturação inicial, enquanto que o S100, anticorpo policlonal, marcaria toda e qualquer célula de Langerhans, determinando a diferença quantitativa nestas duas contagens (HAYATI; ZULKARNAEN, 2007).

O HIV foi o único fator responsável pela redução das células de Langerhans no colo uterino das pacientes estudadas, não havendo outro fator colaborador para esta redução., neste estudo. Entretanto, outros trabalhos verificaram que os HPV's de alto risco inibem a resposta imunológica local, já que suprimem a migração de células de Langerhans imaturas para o local da neoplasia, facilitando a proliferação e perpetuação do HPV do trato genital inferior (ARANY et al., 1998; GUESS; McCANCE, 2005; HERMAN et al., 2007). Entretanto, na vigência de co-infecção com o HIV, este seria responsável pela redução da contagem destas células, independente da presença do HPV (JIMENEZ FLORES et al., 2006; POPPE et al., 1998). Estudo realizado por Sobhani et al. (2002) em mucosa anal corrobora com esta observação, já que verificou que o HIV foi o único fator de risco para a diminuição no número de células de Langerhans ($p < 0,001$), variando inclusive com a carga viral ($p < 0,03$), mas não com a contagem de linfócitos TCD4+. Com isso, acredita-se que o HPV aumente a contagem de células de Langerhans na mucosa anal de pacientes soronegativas para o HIV, mas, nas soropositivas, o HIV altera esse mecanismo, aumentando o risco de câncer anal.

Outra associação citada na literatura é o grau da lesão histopatológica e a contagem de células de Langerhans. Pacientes com lesão intra-epitelial de alto grau teriam menor número de células de Langerhans, quando comparadas com as pacientes com lesão

intra-epitelial de baixo grau (SPINILLO et al., 1993). Neste estudo, verificamos menor contagem de células de Langerhans nas neoplasias intra-epiteliais de alto grau, porém sem significância estatística. A utilização da medicação anti-retroviral por 80% das pacientes soropositivas pode ter interferido no número de células de Langerhans presente nas lesões, mas não temos como avaliar o tempo de uso da medicação anti-retroviral. A literatura relata que esta medicação teria a capacidade de evitar a recidiva e, inclusive, atuar na regressão de lesões HPV induzidas do colo uterino (ARAÚJO et al., 2005; DELMAS et al., 2000; HEARD et al., 2005; MONINI et al., 2004; ZIMMERMANN et al., 2006). O número de células de Langerhans esteve, então, relacionado à presença do HIV, mas não em relação ao grau da neoplasia (JIMENEZ FLORES et al., 2006; POPPE et al., 1998).

Alguns estudos citam diminuição na contagem de células de Langerhans em pacientes tabagistas, o que poderia influenciar no determinismo das neoplasias intra-epiteliais cervicais. Em nosso estudo, não verificamos esta associação (BARTON et al., 1998; NADAIS et al., 2006; UCHIMURA et al., 2004 a, b, c).

A E-caderina é proteína relacionada à adesão célula-célula. A expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial tem sido considerada prognóstica. Foi observada diminuição da expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial à medida que o grau da neoplasia aumenta (BRANCA et al., 2006; FALEIRO-RODRIGUES; LOPES, 2004; KAPLANIS et al., 2005; RODRÍGUEZ-SASTRE et al., 2005). Entretanto, neste estudo, verificou-se que a expressão da E-caderina foi observada até as camadas superficiais do epitélio em lesões intra-epiteliais de alto grau. Ou seja, quando as lesões intra-epiteliais cervicais eram leves ou ausentes (cervicite), a expressão na membrana da célula epitelial foi freqüente no terço basal do epitélio. Nas lesões intra-epiteliais de alto grau, a expressão da E-caderina atingiu o terço médio e superior do epitélio. Nossos achados são semelhantes ao de Daraï et al. (2000), que descreveram a expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial. Estes autores verificaram que a expressão aumenta com o grau da neoplasia intra-epitelial cervical, mas não com a infecção pelo HIV. Outro estudo verificou que a expressão da E-caderina ocorreu na área da lesão displásica, havendo expressão em todas as camadas nas lesões de alto grau (JEFFERS et al., 1997). Outros estudos verificaram a expressão da E-caderina no citoplasma da célula e tal expressão esteve associada ao grau da neoplasia cervical (VESSEY et al., 1995).

Acredita-se que a diferença de resultados obtidos nesses estudos possa estar associada às mutações do complexo E-caderina-catenina. As caderinas compreendem uma grande família de moléculas de adesão que estabelecem ligação entre as células por meio de interações homofílicas proteína-proteína. As cateninas são proteínas, estão envolvidas de forma direta ou indireta com a E-caderina e formam o complexo caderina-catenina. Este complexo atua nos mecanismos de supressão da invasão e metástase e no controle da proliferação celular. Muitos tumores (pele, cabeça, pescoço, pulmão, mama, tireóide, estômago, cólon e ovário) apresentam redução da expressão de E-caderina quando comparados com a expressão nos respectivos tecidos normais. A perda de expressão da E-caderina é observada na maioria dos tumores gástricos de padrão difuso e nos tumores lobulares de mama, entretanto, sua expressão é mantida nos tumores gástricos padrão intestinal e nos tumores ductais de mama (FERREIRA, 2007). Há descrições da E-caderina associadas ao câncer gástrico, que provavelmente afetaram a habilidade da E-caderina em mediar a adesão célula-célula e suprimir a invasão celular (BROOKS-WILSON et al., 2004). O mesmo pôde-se verificar nos carcinomas mamários. Estudo recente identificou expressão aberrante da E-caderina nos carcinomas lobulares da mama, o que está associado à deleção gênica (SILVA et al., 2007).

A expressão da E-caderina ainda é controversa em lesões intra-epiteliais cervicais. Alguns estudos mostram aumento da expressão na membrana da célula epitelial acompanhando o grau da neoplasia cervical, enquanto outros mostram diminuição, principalmente redução associada ao carcinoma invasor e até mesmo incremento ou diminuição de sua expressão no citoplasma. Os responsáveis por esta expressão aberrante ainda precisam ser investigados (WILDING et al., 1996).

Quando iniciamos o estudo das neoplasias intra-epiteliais cervicais em pacientes soropositivas para o HIV, a literatura afirmava que a imunidade sistêmica, representada pela contagem de linfócitos TCD4+, era responsável pela frequência e agressividade das lesões intra-epiteliais cervicais neste grupo de pacientes. Nesta época, o carcinoma invasor de colo uterino passou a fazer parte do diagnóstico de AIDS nas pacientes soropositivas para o HIV. Sendo assim, acreditava-se que quanto menor fosse a contagem de linfócitos TCD4+, mais grave seria a lesão cervical (VERNON et al., 1993; WILLIAMS et al., 1994; WRIGHT Jr. et al., 1994). Estes resultados não foram reproduzidos em outros estudos realizados na Faculdade

de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (ARAÚJO et al., 2005; SOUZA et al., 2001; ZIMMERMANN et al., 2006). A resposta para esta divergência foi a utilização da medicação anti-retroviral. Nesta época, vários trabalhos avaliaram a participação da HAART como um importante fator para a regressão das neoplasias cervicais. A carga viral foi também testada e citada como um fator de risco às neoplasias cervicais. Deste modo, com a medicação anti-retroviral, melhorava-se a imunidade sistêmica e reduzia-se a carga viral do HIV (AHDIEH et al., 2001; DE SANJOSÉ; PALEFSKY, 2002; SONCINI; CONDEMI, 2003).

Acreditamos, entretanto, que seria muito simplista pensar que a resposta imunológica estaria atrelada apenas à contagem de linfócitos TCD4+. Por isso, optamos por estudar alguns componentes da imunidade local e nossos resultados mostraram que a infecção pelo HIV reduz o número de células de Langerhans no colo uterino, tanto na área da neoplasia quanto ao longo do epitélio cervical. No entanto, a contagem das células de Langerhans marcadas com CD1a e S100 não explica completamente a frequência, regressão e progressão das lesões intra-epiteliais cervicais nas pacientes soropositivas para o HIV, considerando a complexidade da resposta imunológica. Por isso, estudos avaliando outros componentes da resposta imunológica local e também fatores inerentes ao próprio HPV devem ser realizados.

6. CONCLUSÕES

1. As pacientes soropositivas para o HIV apresentaram menor contagem de células de Langerhans quando comparadas com as soronegativas, tanto na área da lesão intra-epitelial quanto ao longo do epitélio cervical, sendo a infecção pelo HIV o fator responsável por esta redução, na amostra estudada.
2. A expressão membranácea da E-caderina não se associou à infecção pelo HIV, mas é diretamente proporcional à gravidade da neoplasia cervical, na amostra estudada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. *Imunologia celular e molecular*. Rio de Janeiro: Revinter; 2000. 486p.
2. AHDIEH, L.; KLEIN, R.S.; BURK, R. et al. Prevalence, incidence, and type-specific persistence of human papillomavirus in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative women. *J. Infect. Dis.*, Chicago, v.184, n.6, p.682-690, 2001.
3. ARANY, I.; EVANS, T.; TYRING, S.K. Tissue specific HPV expression and downregulation of local immune responses in condylomas from HIV seropositive individuals. *Sex. Transm. Infect.*, London, v.74, n.5, p.349-353, 1998.
4. ARAÚJO, A.C.L.; MELO V.H.; CASTRO, L.P.F. et al. Associação entre a carga viral e os linfócitos T CD4+ com as lesões intra-epiteliais do colo uterino em mulheres infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, Rio de Janeiro, v.27, n.3, p.106-111, 2005.
5. BARTON, S.E.; MADDOX, P.H.; JENKINS, D. et al. Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: a mechanism for neoplastic change? *Lancet*, London, v.2, n.8612, p.652-654, 1988.
6. BERX, G.; VAN ROY, F. The E-cadherin/catenin complex: an important gatekeeper in breast cancer tumorigenesis and malignant progression. *Breast Cancer Res.*, London, v.3, n.5, p.289-293, 2001.
7. BRANCA, M.; GIORGI, C.; CIOTTI, M. et al. Down-regulation of E-cadherin is closely associated with progression of cervical intraepithelial neoplasia (CIN), but not with high-risk human papillomavirus (HPV) or disease outcome in cervical cancer. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, Montreal, v.27, n.3, p.215-223, 2006.
8. BROOKS-WILSON, A.R.; KAURAH, P.; SURIANO, G. et al. Germline E-cadherin mutations in hereditary diffuse gastric cancer: assessment of 42 new families and review of genetic screening criteria. *J. Medical Genet.*, London, v.41, n.7, p.508-517, 2004.
9. BRUNETTI, B.; SARLI, G.; PREZIOSI, R. et al. E-cadherin expression in canine mammary carcinomas with regional lymph node metastases. *J. Vet. Med., A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, Berlin, v.50, n.10, p.496-500, 2003.
10. CALICH, V.L.G.; VAZ, C.A.C. (Ed.). *Imunologia básica*. São Paulo: Artes Médicas, 1988. 462p.
11. CALORE, E.E.; PEREIRA, S.M.; CAVALIERE, M.J. Progression of cervical lesions in HIV-seropositive women: a cytological study. *Diagn. Cytopathol.*, New York, v.24, n.2, p.117-119, 2001.
12. CAMPANER, A.B.; NADAIS, R.F.; GALVÃO, M.A. et al. Evaluation of density of Langerhans cells in human cervical intraepithelial neoplasia. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, Stockholm, v.86, n.3, p.361-366, 2007.

13. CAMPOS, R.R.; MELO, V.H.; DEL CASTILHO, D.M. et al. Prevalência do papilomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não portadoras do vírus da imunodeficiência humana. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, Rio de Janeiro, v.27, n.5, p.248-256, 2005.
14. COELHO, R.A.; FACUNDO, M.K.F.; NOGUEIRA, A.L. et al. Relação entre diagnóstico citopatológico de neoplasia intra-epitelial cervical e índices de células CD4+ e de carga viral em pacientes HIV-soropositivas. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, Rio de Janeiro, v.26, n.2, p.97-102, 2004.
15. COX, J.T.; SCHIFFMAN, M.; SOLOMON, D. et al. Prospective follow-up suggests similar risk of subsequent cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 among women with cervical intraepithelial neoplasia grade 1 or negative colposcopy and directed biopsy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, St. Louis, v.188, n.6, p.1406-1412, 2003.
16. DARAI, E.; WALKER-COMBROUZE F.; BÉNIFLA, J.L. et al. E-Cadherin and CD44 expression in cervical intraepithelial neoplasia: comparison between HIV-positive and HIV-negative women and correlation with HPV status. *Gynecol. Oncol.*, New York, v.76, n.1, p.56-62, 2000.
17. DELMAS, M.C.; LARSEN, C.; VAN BENTHEM B. et al. Cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women: prevalence, incidence and regression. *AIDS*, London, v.14, n.12, p.1775-1784, 2000.
18. DE SANJOSÉ, S.; PALEFSKY, J. Cervical and anal HPV infections in HIV positive women and men. *Virus Res.*, Amsterdam, v.89, n.2, p.201-211, 2002.
19. DIFRANCO, C.F.; TOTO, P.D.; ROWDEN, G. et al. Identification of Langerhans cells in human gingival epithelium. *J. Periodontol.*, Indianapolis, v.56, n.1, p.48-54, 1985.
20. DUERR, A.; PARAMSOTHY, P.; JAMIESON, D.J. et al. Effect of HIV infection on atypical squamous cells of undetermined significance. *Clin. Infect. Dis.*, Chicago, v.42, n.6, p.855-861, 2006.
21. FALEIRO-RODRIGUES, C.; LOPES, C. E-Cadherin, CD44 and CD44v6 in squamous intraepithelial lesions and invasive carcinomas of the uterine cervix: an immunohistochemical study. *Pathobiology*, Basel, v.71, n.6, p.329-336, 2004.
22. FERREIRA, F.O. Câncer gástrico difuso hereditário. Disponível em: <www.geth.org.br>. Acesso em: 01 dez. 2007.
23. FONSECA, M.G.P.; SZWARCOWALD, C.L.; BASTOS, F.I. A sociodemographic analysis of the AIDS epidemic in Brazil, 1989-1997. *Rev. Saúde Pública*, São Paulo, v.36, n.6, p.678-685, 2002.
24. FRANÇA, J.L.; VASCONCELLOS, A.C. Manual para normalização de publicações técnico-científicas. 8ª ed. Belo Horizonte: UFMG; 2007. 256p.
25. GIANNINI, S.L.; HUBERT, P.; DOYEN, J. et al. Influence of the mucosal epithelium microenvironment on Langerhans' cells: implications for the development of squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Int. J. Cancer*, New York, v.97, n.5, p.654-659, 2002.

26. GIR, E.; CANINI, S.R.M.S.; PRADO, M.A. A feminização da AIDS: conhecimento de mulheres soropositivas sobre a transmissão e prevenção do HIV - 1. DST - J. Bras. Doenças Sex. Transm., Rio de Janeiro, v.16, n.3, p.73-76, 2004.
27. GONÇALVES, M.A.; SOARES, E.G; FERNANDES, A.P et al. Langerhans' cell count and HLA class II profile in cervical intraepithelial neoplasia in the presence or absence of HIV infection. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., Amsterdam, v.114, n.2, p.221-227, 2004.
28. GUESS, J.C.; McCANCE, D.J. Decreased migration of Langerhans precursor-like cells in response to human keratinocytes expressing human papillomavirus type 16 E6/E7 is related to reduced macrophage inflammatory protein-3alpha production. J. Virol., Washington, v.79, n.23, p.14852-14862, 2005.
29. GUIMARÃES, P.N.; MARTIN, D.; QUIRINO, J. AIDS em área rural de Minas Gerais: abordagem cultural. Rev. Saúde Pública, São Paulo, v.41, n.3, p.412-418, 2007.
30. HAYATI, A.R.; ZULKARNAEN, M. An immunohistochemical study of CD1a and CD83-positive infiltrating dendritic cell density in cervical neoplasia. Int. J. Gynecol. Pathol., New York, v.26, n.1, p.83-88, 2007.
31. HEARD, I.; POTARD, V.; FOULOT, H. et al. High rate of recurrence of cervical intraepithelial neoplasia after surgery in HIV-positive women. J. Acquir. Immune Defic. Syndr., Hagerstown, v.39, n.4, p.412-418, 2005.
32. HENRIQUES, A.P.C.; MAGALHÃES, V.; TENÓRIO, T. Infecções genitais em mulheres infectadas pelo vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) acompanhadas no Hospital das Clínicas da UFPE. Disponível em: <newslab.com.br>. Acesso em: 21 out. 2007.
33. HERMAN, L.; HUBERT, P.; CABERG, J.H. et al. MIP3 alpha stimulates the migration of Langerhans cells in models of human papillomavirus (HPV)-associated (pre)neoplastic epithelium. Cancer Immunol. Immunother., New York, v.56, n.7, p.1087-1096, 2007.
34. HUBERT, P.; CABERG, J.H.; GILLES, C. et al. E-cadherin-dependent adhesion of dendritic and Langerhans cells to keratinocytes is defective in cervical human papillomavirus-associated (pre)neoplastic lesions. J. Pathol., Edinburgh, v.206, n.3, p.346-355, 2005.
35. JEFFERS, M.D.; PAXTON, J.; BOLGER, B. et al. E-cadherin and integrin cell adhesion molecule expression in invasive and in situ carcinoma of the cervix. Gynecol. Oncol., New York, v.64, n.3, p.481-486, 1997.
36. JIMENEZ-FLORES, R.; MENDEZ-CRUZ, R.; OJEDA-ORTIZ, J. et al. High-risk human papilloma virus infection decreases the frequency of dendritic Langerhans' cells in the human female genital tract. Immunology, Oxford, v.117, n.2, p.220-228, 2006.
37. KAPLANIS, K.; KIZIRIDOU, A.; LIBERIS, V. et al. E-cadherin expression during progression of squamous intraepithelial lesions in the uterine cervix. Eur. J. Gynaecol. Oncol., Montreal, v.26, n.6, p.608-610, 2005.
38. KNUDSEN, K.A.; WHEELOCK, M.J. Cadherins and the mammary gland. J. Cell. Biochem., New York, v.95, n.3, p.488-496, 2005.

39. LEVI, G.; FELDMAN, J.; HOLMAN, S. et al. Relationship between HIV viral load and Langerhans cells of the cervical epithelium. *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, Tokyo, v.31, n.2, p.178-184, 2005.
40. LINS, R.D.A.U.; FREITAS, R.A.; FIGUEIREDO, C.R.L.V. et al. Células dendríticas: origem, distribuição, morfologia, estrutura, atividade funcional e métodos de identificação - uma revisão. *Rev. Bras. Patol. Oral, Natal*, v.2, n.3, p.29-35, 2003. Disponível em: <<http://www.patologiaoral.com.br/texto34.asp>>. Acesso em: 23 out. 2007.
41. LODISH, H.F.; BERK, A.; ZIPURSKY, S.L. et al. *Molecular cell biology*. 4.ed. New York: W.H. Freeman, 2000. 1084p.
42. LOMBARDI, T.; HAUSER, C.; BUDTZ-JÖRGENSEN, E. Langerhans cells: structure, function and role in oral pathological conditions. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.22, n.5, p.193-202, 1993.
43. MACHADO, P.R.L.; ARAÚJO, M.I.A.S.; CARVALHO, L. et al. Mecanismos de respostas imunes às infecções. *Na. Brás. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v.79, n.6, p.647-662, 2004.
44. MATOS, A.J.F.; LOPES, C.; CARVALHEIRA, J. et al. E-cadherin expression in canine malignant mammary tumours: relationship to other clinico-pathological variables. *J. Comp. Pathol.*, Liverpool, v.134, n.2/3, p.182-189, 2006.
45. MAYAUD, P.; GILL, D.K.; WEISS, H.A. et al. The interrelation of HIV, cervical human papillomavirus, and neoplasia among antenatal clinic attenders in Tanzania. *Sex. Transm. Infect.*, London, v.77, n.4, p.248-254, 2001.
46. MELO, V.H.; ARAÚJO, A.C.L.; RIO, S.M.P. Problemas ginecológicos mais frequentes em mulheres soropositivas para o HIV. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, Rio de Janeiro, v.25, n.9, p.661-666, 2003.
47. MONINI, P.; SGADARI, C.; TOSCHI, E. et al. Antitumor effects of antiretroviral therapy. *Nat. Rev.*, Cancer, London, v.4, n.11, p.861-875, 2004.
48. NADAIS, R.F.; CAMPANER, A.B.; PIATO, S. et al. Langerhans' cells and smoking in intraepithelial neoplasia of the cervix. *Gynecol. Oncol.*, New York, v.102, n.2, p.356-360, 2006.
49. PALAORO, L.A.; ROCHER, A.E.; BLANCO, A.M. Células de Langerhans y lesiones intraepiteliales de cuello uterino. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.*, Buenos Aires, v.36, n.1, p.51-56, 2002.
50. PALEFSKY, J. Human papillomavirus-related tumors in HIV. *Curr. Opin. Oncol.*, Philadelphia, v.18, n.5, p.463-468, 2006.
51. PEREYRA, E.G.; PARELLADA, C.I.; CHUERY, A.C.S. Papilomavírus humano. In: MARTINS, N.V.; PEREYRA, E.G. *Conhecendo o HPV: patologia do trato genital inferior, colposcopia e cirurgia de alta frequência*. São Paulo: Frôntis Editorial, 2000. p.1-12.
52. PIKETTY, C.; KAZATCHKINE, M.D. Human papillomavirus-related cervical and anal disease in HIV-infected individuals in the era of highly active antiretroviral therapy. *Curr. HIV AIDS Rep.*, Philadelphia, v.2, n.3, p.140-145, 2005.

53. POPPE, W.A.; DRIJKONINGEN, M.; IDE, P.S. et al. Lymphocytes and dendritic cells in the normal uterine cervix: an immunohistochemical study. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, Amsterdam, v.81, n.2, p.277-282, 1998.
54. PRAÇA, N.S.; LATORRE, M.R.D.O. Saúde sexual e reprodutiva com enfoque na transmissão do HIV: práticas de puérperas atendidas em maternidades filantrópicas do município de São Paulo. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.*, Recife, v.3, n.1, p.61-74, 2003.
55. PRAKASH, M.; PATTERSON, S.; GOTCH, F. et al. Ex vivo analysis of HIV-1 co-receptors at the endocervical mucosa of women using oral contraceptives. *BJOG*, Oxford, v.111, n.12, p.1468-1470, 2004.
56. REICHHARDT, M.; JAEGER, R.G.; ARAÚJO, N.S. et al. Células de Langerhans na gengiva inflamada: identificação por meio da proteína S-100 das células de Langerhans na gengiva inflamada. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, São Paulo, v.45, n.2, p.425-428, 1991.
57. REIS e SOUSA, C.; SHER, A.; KAYE, P. The role of dendritic cells in the induction and regulation of immunity to microbial infection. *Curr. Opin. Immunol.*, Philadelphia, v.11, n.4, p.392-399, 1999.
58. RICHART, R.M. Cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol. Annu.*, East Norwalk, v.8, p.301-328, 1973.
59. RIETHMULLER, D. Ano-genital papillomavirus infections in women. *Rev. Prat.*, Paris, v.56, n.17, p.1893-1900, 2006.
60. RIETHMULLER, D.; SCHAAL, J.P.; MOUGIN, C. Epidemiology and natural history of genital infection by human papillomavirus. *Gynecol. Obstet. Fertil.*, Paris, v.30, n.2, p.139-146, 2002.
61. RODRIGUEZ-SASTRE, M.A.; GONZÁLEZ-MAYA, L.; DELGADO, R. et al. Abnormal distribution of E-cadherin and β -catenin in different histologic types of cancer of the uterine cervix. *Gynecol. Oncol.*, New York, v.97, n.2, p.330-336, 2005.
62. ROWLANDS, T.M.; SYMONDS, J.M.; FAROOKHI, R. et al. Cadherins: crucial regulators of structure and function in reproductive tissues. *Rev. Reprod.*, Colchester, v.5, n.1, p.53-61, 2000.
63. SIKORSKI, M.; BIEDA, T.; BOBEK, M. et al. Dynamics of cervical Langerhans cell counts in the course of HPV-positive CIN treatment with the use of human recombinant interferon gamma. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, Montreal, v.26, n.3, p.294-298, 2005.
64. SILVA, L.; PARRY, S.; REID, L.; KEITH, P. et al. Aberrant expression of E-cadherin in lobular carcinomas of the breast. *Am. J. Surg. Pathol.*, New York, 2007. In press.
65. SOBHANI, I.; WALKER, F.; APARICIO, T. et al. Effect of anal epidermoid cancer-related viruses on the dendritic (Langerhans') cells of the human anal mucosa. *Clin. Cancer Res.*, Philadelphia, v.8, n.9, p.2862-2869, 2002.
66. SONCINI, E.; CONDEMI, V. Intraepithelial cervical carcinoma and HIV: prevalence, risk factors and prevention strategies. *Minerva Ginecol.*, Torino, v.55, n.1, p.51-55, 2003.

67. SOUZA, N.S.T.; MELO, V.H.; CASTRO, L.P.F. Diagnóstico da infecção pelo HPV em lesões de colo uterino de mulheres HIV+: acuidade da histologia. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, Rio de Janeiro, v.23, n.6, p.355-361, 2001.
68. SPINILLO, A.; TENTI, P.; ZAPPATORE, R. et al. Langerhans' cell counts and cervical intraepithelial neoplasia in women with human immunodeficiency virus infection. *Gynecol. Oncol.*, New York, v.48, n.2, p.210-213, 1993.
69. SPINILLO, A.; ZARA, F.; GARDELLA, B. et al. Cervical intraepithelial neoplasia and cervicovaginal shedding of human immunodeficiency virus. *Obstet. Gynecol.*, Hagerstown, v.107, n.2, Pt.1, p.314-320, 2006.
70. STANLEY, M. The immunology of genital human papilloma virus infection. *Eur. J. Dermatol.*, Mountrouge, v.8, n.7, p.8-12, 20-22, 1998. Supplement.
71. TAUBE, J.M.; NICHOLS, A.D.; BORNMAN, L.S. et al. Langerhans cell density and high-grade vulvar intraepithelial neoplasia in women with human immunodeficiency virus infection. *J. Cutan. Pathol.*, Copenhagen, v.34, n.7, p.565-570, 2007.
72. TRINDADE, M.P.; SCHIAVO, M.R. Comportamento sexual das mulheres em relação ao HIV, AIDS. DST – J. Bras. Doenças Sex. Transm., Rio de Janeiro, v.13, n.5, p.17-22, 2001.
73. UCHIMURA, N.S.; RIBALTA, J.C.L.; FOCCHI, J. et al. Os efeitos do tabagismo na densidade das células de Langerhans do colo uterino. *Acta Sci., Health Sci.*, Maringá, v.26, n.2, p.369-373, 2004a.
74. UCHIMURA, N.S.; RIBALTA, J.C.L.; FOCCHI, J. et al. Evaluation of Langerhans' cells in human papillomavirus-associated squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.*, Padua, v.31, n.4, p.260-262, 2004b.
75. UCHIMURA, N.S.; RIBALTA, J.C.L.; FOCCHI, J. et al. Fatores Biocomportamentais e as alterações no número das células de Langerhans. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, Rio de Janeiro, v.26, n.4, p.289-294, 2004c.
76. UCHIMURA, N.S.; RIBALTA, J.C.L.; FOCCHI, J. et al. Influência do uso de anticoncepcionais hormonais orais sobre o número de células de Langerhans em mulheres com captura híbrida negativa para papilomavírus humano. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, Rio de Janeiro, v.27, n.12, p.726-730, 2005.
77. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Medicina. Departamento de Ginecologia e Obstetrícia. Manual para elaboração e apresentação de dissertações e teses no curso de pós-graduação em Ginecologia e Obstetrícia: mestrado e doutorado. Belo Horizonte: Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, 2001. 27p.
78. VERNON, S.D.; HART, C.E.; REEVES, W.C. et al. The HIV-1 tat protein enhances E2-dependent human papillomavirus 16 transcription. *Virus Res.*, Amsterdam, v.27, n.2, p.133-145, 1993.
79. VESSEY, C.J.; WILDING, J.; FOLARIN, N. et al. Altered expression and function of E-cadherin in cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma. *J. Pathol.*, Edinburgh, v.176, n.2, p.151-159, 1995.

80. VOLTZ, J.M.; DROBACHEFF, C.; DERANCOURT, C. et al. Papillomavirus-induced anogenital lesions in 121 HIV seropositive men: clinical, histological, viral study, and evolution. *Ann. Dermatol. Venereol., Paris*, v.126, n.5, p.424-429, 1999.
81. WALKER, F.; ADLE-BIASSETTE, H.; MADELENAT, P. et al. Increased apoptosis in cervical intraepithelial neoplasia associated with HIV infection: implication of oncogenic human papillomavirus, caspases, and Langerhans cells. *Clin. Cancer Res., Philadelphia*, v.11, n.7, p.2451-2458, 2005.
82. WILDING, J.; VOUSDEN, K.H.; SOUTTER, W.P. et al. E-cadherin transfection down-regulates the epidermal growth factor receptor and reverses the invasive phenotype of human papilloma virus-transfected keratinocytes. *Cancer Res., Baltimore*, v.56, n.22, p.5285-5292, 1996.
83. WILLIAMS, A.B.; DARRAGH, T.M.; VRANIZAN, K. et al. Anal and cervical human papillomavirus infection and risk of anal and cervical epithelial abnormalities in human immunodeficiency virus-infected women. *Obstet. Gynecol., Hagerstown*, v.83, n.2, p.205-211, 1994.
84. WRIGHT Jr., T.C.; COX, J.T.; MASSAD, L.S. et al. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA, Chicago*, v.287, n.16, p.2120-2129, 2002.
85. WRIGHT Jr., T.C.; ELLERBROCK, T.V.; CHIASSON, M.A. et al. Cervical intraepithelial neoplasia in women infected with human immunodeficiency virus: prevalence, risk factors, and validity of Papanicolaou smears. *New York Cervical Disease Study. Obstet. Gynecol., Hagerstown*, v.84, n.4, p.591-597, 1994.
86. ZEGER, W.; HOLT, K. Gynecologic infections. *Emerg. Med. Clin. North Am., Philadelphia*, v.21, n.3, p.631-648, 2003.
87. ZIMMERMANN, J.B. Prevalência dos genótipos do Papilomavírus humano em pacientes infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana e sua associação com a gravidade das lesões do colo uterino e a imunidade do hospedeiro. 2002. 146 fl. Dissertação (Mestrado em Saúde da Mulher) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002a.
88. ZIMMERMANN, J.B. Prevalência dos genótipos do Papilomavírus humano em pacientes infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana e sua associação com o grau das lesões do colo uterino. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet., Rio de Janeiro*, v.24, n.6, p.419, 2002b. Resumo.
89. ZIMMERMANN, J.B.; MELO, V.H.; CASTRO, L.P.F. et al. Associação entre a contagem de linfócitos T CD4+ e a gravidade da neoplasia intra-epitelial cervical diagnosticada pela histopatologia em mulheres infectadas pelo HIV. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet. Rio de Janeiro*, v.28, n.6, p.345-351, 2006.

8. ANEXOS

TABELA 7a

Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com $p > 0,25$, não incluídos no modelo multivariado inicial, considerando o marcador CD1a e a média da contagem de células de Langerhans ao longo do epitélio.

Variáveis	N	Média	Dp	Mínimo	Máximo	p
Histopatologia alto grau						
Sim	30	1,8	1,6	0,0	5,0	0,66
Não	47	1,6	1,3	0,0	6,0	
HPV						
Baixo risco	12	1,3	1,3	0,0	3,8	0,68
Alto risco	51	1,6	1,4	0,0	6,0	
Não identificado	14	1,9	1,7	0,0	4,2	
Estado civil						
Solteira	38	1,9	1,5	0,0	6,0	0,27
Casada + união estável	26	1,4	1,5	0,0	5,0	
Desquitada + divorciada + viúva	13	1,4	1,1	0,0	3,6	
DST prévia						
Sim	17	1,5	1,4	0,0	4,6	0,77
Não	60	1,7	1,5	0,0	6,0	

TABELA 7b

Comparação das variáveis quantitativas com o número médio de células de Langerhans, considerando o marcador CD1a, ao longo do epitélio.

Variável	r	r ²	Valor-p
Idade	0,119	0,014	0,305
Menarca	0,037	0,001	0,749

TABELA 7c

Valores de p e ordem de retirada das variáveis do modelo multivariado para o marcador CD1a ao longo do epitélio cervical

Variável	Valor-p											
Escolaridade	0,848	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Profissão	0,616	0,609	0,606	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Vida sexual	0,462	0,473	0,469	0,520	0,530	0,553	0,565	0,549	X	X	X	X
Preservativo	0,752	0,771	0,765	0,784	0,814	X	X	X	X	X	X	X
Ciclo	0,666	0,673	0,671	0,686	0,662	0,644	X	X	X	X	X	X
HIV	0,024	0,008	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Antiretroviral	0,978	0,980	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Tabagismo	0,840	0,827	0,810	0,856	X	X	X	X	X	X	X	X
Etilismo	0,418	0,409	0,396	0,355	0,326	0,318	0,347	0,350	0,424	X	X	X
Contraceptivo	0,702	0,682	0,678	0,585	0,562	0,450	0,465	0,420	0,345	0,370	X	X
Motivo	0,587	0,566	0,558	0,558	0,558	0,531	0,596	X	X	X	X	X

TABELA 9a

Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com $p > 0,25$, não incluídos no modelo multivariado inicial, considerando o marcador S100 e a média da contagem de células de Langerhans ao longo do epitélio.

Variáveis	N	Média	Dp	Mínimo	Máximo	p
Preservativo						
Sim	21	2,4	2,4	0,0	7,5	0,97
Não	56	2,4	1,6	0,0	5,6	
Parceiros sexuais						
Menos de 5	65	2,4	1,8	0,0	7,5	0,98
Cinco ou mais	12	2,4	1,9	0,0	7,0	
Histopatologia alto grau						
Sim	30	2,6	1,8	0,0	7,0	0,50
Não	47	2,3	1,8	0,0	7,5	
HPV						
Baixo risco	12	2,0	1,8	0,0	5,2	0,45
Alto risco	51	2,3	1,8	0,0	7,5	
Não identificado	14	2,9	1,9	0,2	7,0	

TABELA 9b

Comparação das variáveis quantitativas e número médio de células de Langerhans, considerando o marcador S100, ao longo do epitélio.

Variável	R	r^2	Valor-p
Idade	0,177	0,031	0,123
Menarca	0,223	0,050	0,051

TABELA 9c

Valores de p e ordem de retirada das variáveis do modelo multivariado para o marcador S100 ao longo do epitélio cervical.

Variáveis	Valor-p														
Escolaridade	0,289	0,264	0,326	0,326	0,331	0,368	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Profissão	0,289	0,270	0,309	0,319	0,301	0,339	0,353	0,390	X	X	X	X	X	X	X
Vida sexual	0,328	0,319	0,368	0,370	0,362	0,378	0,471	X	X	X	X	X	X	X	X
Ciclo	0,685	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
HIV	0,006	0,003	0,002	0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Antiretroviral	0,676	0,687	0,682	0,721	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Tabagismo	0,616	0,660	0,801	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Etilismo	0,289	0,314	0,322	0,334	0,353	0,364	0,398	0,312	0,359	0,294	X	X	X	X	
Estado civil	0,172	0,184	0,230	0,237	0,223	0,239	0,297	0,365	0,355	0,240	0,326	X	X	X	
Contraceptivo	0,115	0,118	0,129	0,126	0,113	0,094	0,100	0,130	0,161	0,136	0,165	0,189	X	X	
DST prévia	0,500	0,526	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Motivo	0,377	0,413	0,447	0,446	0,476	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Idade	0,325	0,278	0,274	0,281	0,283	0,348	0,396	0,328	0,506	X	X	X	X	X	
Menarca	0,198	0,177	0,131	0,111	0,114	0,105	0,103	0,126	0,092	x	0,085	0,089	0,126	X	

TABELA 13a

Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com $p > 0,25$, não incluídos no modelo multivariado inicial, considerando o marcador CD1a e a média da contagem de células de Langerhans na área da lesão.

	N	Média	Dp	Mínimo	Máximo	p
Parceiros sexuais						
Menos de 5	64	2,8	2,7	0,0	10,0	0,76
Cinco ou mais	12	3,5	3,9	0,0	13,0	
Histopatologia alto grau						
Sim	30	2,5	2,9	0,0	13,0	0,28
Não	46	3,1	2,8	0,0	10,0	
HPV						
Baixo risco	12	2,5	2,8	0,0	8,0	0,86
Alto risco	50	3,0	3,0	0,0	13,0	
Não identificado	14	2,7	2,6	0,0	8,0	
Estado civil						
Solteira	38	3,2	3,2	0,0	13,0	0,54
Casada + união estável	26	2,7	2,4	0,0	8,0	
Desquitada + divorciada + viúva	12	2,3	2,9	0,0	8,0	
DST prévia						
Sim	17	2,4	2,4	0,0	8,0	0,52
Não	59	3,0	3,0	0,0	13,0	

TABELA 13b

Comparação das variáveis quantitativas com número médio de células na área da lesão, considerando o marcador CD1a.

Variável	r	r ²	Valor-p
Idade	0,172	0,030	0,138
Menarca	0,085	0,007	0,463

Tabela 13c

Valores de p e ordem de retirada das variáveis do modelo multivariado para o marcador CD1a na área da lesão cervical.

Variável	Modelos													
Escolaridade	0,641	0,654	0,659	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Profissão	0,753	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Vida sexual	0,733	0,697	0,686	0,589	0,630	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Preservativo	0,691	0,700	0,679	0,613	0,570	0,714	X	X	X	X	X	X	X	X
Ciclo	0,449	0,424	0,433	0,404	0,443	0,409	0,388	0,366	X	X	X	X	X	X
HIV	0,002	0,002	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Antiretroviral	0,380	0,381	0,346	0,334	0,265	0,276	0,282	0,320	0,348	X	X	X	X	X
Tabagismo	0,696	0,665	0,657	0,654	0,550	0,609	0,656	X	X	X	X	X	X	X
Etilismo	0,631	0,652	0,660	0,670	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Contraceptivo	0,258	0,269	0,258	0,263	0,264	0,162	0,120	0,125	0,133	0,152	0,052	0,071	X	X
Motivo	0,842	0,852	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Idade	0,175	0,167	0,166	0,182	0,166	0,186	0,190	0,174	0,134	0,128	0,104	0,077	0,310	X

TABELA 15a

Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com $p > 0,25$, não incluídos no modelo multivariado inicial, considerando o marcador S100 e a média da contagem de células de Langerhans na área da lesão.

	N	Média	Dp	Mínimo	Máximo	p
Preservativo						
Sim	21	3,8	3,5	0,0	12,0	0,69
Não	56	4,1	3,1	0,0	10,0	
Parceiros sexuais						
Menos de 5	65	4,1	3,2	0,0	12,0	0,70
Cinco ou mais	12	3,7	3,2	0,0	8,0	
Histopatologia alto grau						
Sim	30	3,8	3,0	0,0	10,0	0,61
Não	47	4,2	3,4	0,0	12,0	
HPV						
Baixo risco	12	3,5	2,5	0,0	6,0	0,70
Alto risco	51	3,9	3,4	0,0	12,0	
Não identificado	14	4,6	3,2	0,0	10,0	
Estado civil						
Solteira	38	4,2	3,4	0,0	12,0	0,80
Casada + união estável	26	3,8	2,9	0,0	9,0	
Desquitada + divorciada + viúva	13	3,6	3,3	0,0	10,0	

TABELA 15b

Comparação das variáveis quantitativas com número médio de células, na área da lesão, considerando o marcador S100.

Variável	r	r ²	Valor-p
Idade	0,131	0,017	0,256
Menarca	0,078	0,006	0,500

TABELA 15c

Valores de p e ordem de retirada das variáveis do modelo multivariado para o marcador S100 na área da lesão cervical.

Variável	Modelos											
Escolaridade	0,404	0,403	0,370	0,450	0,434	0,431	0,430	0,419	X	X	X	X
Profissão	0,729	0,722	0,743	0,823	0,825	0,816	X	X	X	X	X	X
Vida sexual	0,608	0,610	0,575	0,484	0,477	0,475	0,452	0,466	0,603	X	X	X
Ciclo	0,688	0,693	0,710	0,955	0,963	X	X	X	X	X	X	X
HIV	0,101	0,018	0,016	0,007	0,005	0,03	0,002	0,002	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Antiretroviral	0,844	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Tabagismo	0,530	0,471	0,414	0,471	0,469	0,458	0,426	0,416	0,355	0,365	0,297	X
Etilismo	0,436	0,447	0,440	0,454	0,452	0,447	0,458	0,445	0,420	0,489	X	X
Contraceptivo	0,752	0,731	0,754	X	X	X	X	X	X	X	X	X
DST prévia	0,747	0,744	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Motivo	0,645	0,664	0,678	0,928	X	X	X	X	X	X	X	X
Idade	0,691	0,697	0,689	0,571	0,573	0,550	0,578	X	X	X	X	X

TABELA 21a

Dados clínicos, demográficos e comportamentais das pacientes estudadas com $p > 0,25$, não incluídos no modelo multivariado inicial para a marcação com E-caderina

	Marcação pela E- caderina				p	OR	IC95%
	3/3 + 2/3		1/3				
	N	%	N	%			
Escolaridade							
Nenhuma + Fundamental	11	35,5	14	42,4	0,75	0,75	0,24 a 2,33
Médio + Superior	20	64,5	19	57,6		1,0	
Vida sexual							
Ativa	26	83,9	24	72,7	0,44	1,95	0,49 a 8,01
Inativa	5	16,1	9	27,3		1,0	
Ciclo menstrual regular							
Sim	27	87,1	27	81,8	0,74*	1,50	0,32 a 7,37
Não	4	12,9	6	18,2		1,0	
Parceiros sexuais							
Menos de 5	26	83,9	28	84,8	1,0*	0,93	0,20 a 4,34
Cinco ou mais	5	16,1	5	15,2		1,0	
HIV							
Positiva	20	64,5	17	51,5	0,42	1,71	0,55 a 5,34
Negativa	11	35,5	16	48,5		1,0	
Anti-retrovirais							
Sim	16	51,6	13	39,4	0,47	1,64	0,54 a 5,05
Não	15	48,4	20	60,6		1,0	
Tabagismo							
Sim	8	25,8	6	18,2	0,66	1,57	0,41 a 6,15
Não	23	74,2	27	81,0		1,0	
Etilismo doença							
Sim	0	0,0	2	6,1	0,50*	0,0	0,0 a 4,50
Não	31	100,0	31	93,9		1,0	
Histopatologia alto grau							
Sim	25	80,6	2	6,1	<0,001	64,6	10,1 a 546,3
Não	6	19,4	31	93,9		1,0	
Estado civil							
Solteira	14	45,2	17	51,5	0,33		
Casada + união estável	10	32,3	13	39,4			
Desquitada + divorciada + viúva	7	22,6	3	9,1			
Contraceptivo							
Nenhum	21	66,7	19	54,8	0,60		
Hormonal	8	26,7	12	38,7			
Outros	2	6,7	2	6,5			
DST prévia							
Sim	7	22,6	7	21,2	0,86	1,08	0,28 a 4,17
Não	24	77,4	26	78,8		1,0	

TABELA 21b

Comparação das variáveis quantitativas com a marcação pela E-caderina

	Marcação pela E-caderina						Valor-p
	2/3 + 3/3			1/3			
	n	Média	Dp	n	Média	Dp	
Idade atual	31	31,65	8,95	33	29,67	7,40	0,33
Idade menarca	31	13,0	1,18	33	13,0	1,39	0,97

TABELA 21c

Valores de p e ordem de retirada das variáveis do modelo multivariado para a marcação com E-caderina na área da lesão cervical, considerando também a significância clínica

Variável	Modelos			
	Valor-p		Valor-p	
Profissão	0,608	X		
Condon	0,141	0,103	0,064	0,05
Histologia	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
HPV	0,594	0,565	0,585	X
Motivo	0,626	0,835	X	X

Especificações dos anticorpos utilizados no estudo (CD1a, E-caderina e S100) e especificação do sistema de Detecção Novolink

Monoclonal Mouse - Anti-Human CD1a - Clone 010

ENGLISH

Code M3571

Intended use

For In Vitro Diagnostic Use.

Monoclonal Mouse Anti-CD1a, clone 010 (Anti-CD1a, clone 010) is intended for laboratory use to identify qualitatively by light microscopy

CD1a positive cells in normal and neoplastic tissues using immunohistochemical (IHC) test methods.

Positive results aid in the classification

of thymomas and malignancies of T-cell precursors and the diagnosis of Langerhans' cell histiocytosis.¹

Differential identification is aided by

the results from a panel of antibodies. Interpretation must be made within the context of the patient's

clinical history and other diagnostic

tests by a qualified pathologist.

Summary and explanation

CD1a, a member of the CD1 antigen family, is a non-polymorphic MHC class I-related cell surface glycoprotein expressed in association with

Beta-2-microglobulin.^{1,2}

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system

instructions of IHC procedures for:

1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality

Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Anti-CD1a, clone 010 is provided in 1.0 mL size as a tissue culture supernatant (containing fetal bovine serum) dialyzed against 0.05 mol/L

Tris-HCl, pH 7.2, and 0.015 mol/L sodium azide.

Clone: 010; Isotype: IgG₁, kappa

Mouse IgG concentration mg/L: See label on vial.

M3571 may be used at a dilution of 1:50 when performing IHC using the LSAB2 detection system, Liquid DAB. These are guidelines only.

Optimal antibody concentrations may vary depending on specimen and preparation method and should be determined by each individual

laboratory.

Immunogen

Human thymus cells

Specificity

Monoclonal Anti-Human CD1a, clone 010 (anti-CD1a, clone 010) was classified as CD1a at the Fourth International Workshop and

Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens.² Clone 010 has been shown to

immunoprecipitate labelled CD1a from thymus cell

lysate and from Langerhans' cell-enriched epidermal cell lysate.² In the latter, the antibody strongly precipitated the native CD1a molecule

(49 kD molecular weight) and Beta-2-microglobulin (12 kD molecular weight) but not the trypsin-cleaved CD1a molecule (27 kD molecular

weight).² In immunohistochemistry, the antibody has been demonstrated to react with the CD1a cell surface glycoprotein expressed on

cortical thymocytes, Langerhans' cells, and interdigitating dendritic (reticulum) cells in frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE)

tissues.^{1,2}

Materials required, but not supplied

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* and/or the detection system instructions.

Suggested diluent for IHC procedures:

Antibody Diluent (code S0809)

The following negative control is recommended for IHC procedures:

Mouse IgG₁ (code X0931)

Precautions

1. For professional users.

2. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as

hazardous, NaN₃ may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.³

3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused reagents should be disposed of according to local, State, and Federal regulations.

Storage

Store at 2–8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support. (115011-001) 303743EFG_001 p. 2/7

Specimen preparation

Paraffin Sections

Anti-CD1a, clone 010 can be used on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. The deparaffinized tissue sections must be treated with heat prior to the IHC staining procedure. Target retrieval involves immersion of tissue sections in a pre-heated buffer solution and maintaining heat, either in a water bath (95–99 °C), a steamer (95–99 °C) or an autoclave (121 °C). For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Silanized Slides (code S3003) is recommended. Target Retrieval Solution (code S1700) or 10x Concentrate (code S1699) is recommended using a 20-minute heating protocol.

Cryostat Sections and Cell Smears

Anti-CD1a, clone 010 can be used for labelling acetone-fixed cryostat sections or fixed cell smears. Target or antigen retrieval is not required.

Staining procedure

Follow the procedure for the detection system selected.

Staining interpretation

The cellular staining pattern for CD1a is membrane and weakly cytoplasmic.^{1, 2, 4}

Product specific limitations

For optimal staining and performance on paraffin-embedded tissues, use of DAB as a chromogen with the LSAB2, HRP (Liquid DAB) System is highly recommended.

Performance characteristics

Normal Tissues

Anti-CD1a, clone 010 has been shown to be immunoreactive with Langerhans' cells and variably immunoreactive with interdigitating dendritic cells when tested on FFPE tonsil, and with Langerhans' cells when tested on paraffin-embedded skin.¹ Scattered immunoreactivity has been observed in interdigitating dendritic cells and medullary thymocytes in thymic medulla.^{1, 2}

Abnormal Tissues

Anti-CD1a, clone 010 has demonstrated the following results on abnormal paraffin-embedded tissues

Polyclonal Rabbit - Anti-S100 - Code No./ Code/ Code-Nr. Z 0311

Edition/ Edition/ Ausgabe 13.08.03

Intended use

For in vitro diagnostic use.

Polyclonal Rabbit Anti-S100 is intended for use in immunocytochemistry. The antibody labels cells expressing S100 and is a useful tool for the identification of S100-positive neoplasms, such as malignant melanoma (1, 2), Langerhans' histiocytosis (3), chondroblastoma (4), and schwannoma (5). For differential identification the use of a panel of antibodies is mandatory. A panel of antibodies including Polyclonal Anti-S100, code No. Z 0311, has also been applied by the International Lymphoma Study Group for the classification of tumours of suspected histiocytic/dendritic cell type (6). Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.

Introduction

S100 is a multigene family of low molecular weight (Mr between 9 000 and 13 000) Ca²⁺-binding proteins. The family comprises 19 members that are differentially expressed in a large number of cell types. Thus, S100B (previously S100β) is most abundant in glial cells of the central and peripheral nervous system, in melano-cytes, chondrocytes, and

adipocytes, whereas S100A1 (previously S100A/S100 \square) is most abundant in cardio-myocytes, slow twitch skeletal muscle cells, salivary epithelial cells, and renal cells.

Additionally, S100B is found in tumour cells and subpopulations of neurons, while S100A1 has also been detected in hippocampal neurons. S100A6 is expressed by fibroblasts and smooth and heart muscle cells (5).

Members of the S100 family have been implicated in the Ca₂₊-dependent regulation of a variety of intracellular activities, e.g. protein phosphorylation, cell proliferation (including neoplastic transformation), and differentiation (7).

Reagent provided

Purified immunoglobulin fraction of rabbit antiserum provided in liquid form. In 0.1 mol/L NaCl, 15 mmol/L NaN₃, pH 7.2.

Protein concentration g/L: See label on vial.

The antibody titre variation between different lots is less than 10% as measured by single radial immunodiffusion. This is achieved by adjusting the titre of each individual lot to match the titre of a reference preparation kept at -80 °C.

Immunogen

S100 isolated from cow brain.

Specificity

The antibody has been solid-phase absorbed with human plasma and cow serum proteins.

In crossed immunoelectrophoresis using 50 μ L antibody per cm² gel area, no reaction with 2 μ L human plasma and 2 μ L cow serum is observed. The antibody shows one

distinct double peak (S100) with human and cow brain extracts. Staining: Coomassie Brilliant Blue.

In indirect ELISA, the antibody shows no reaction with human plasma and cow serum.

In Western blotting of purified human recombinant S100 proteins, the antibody labels S100B strongly, S100A1 weakly, and S100A6 very weakly. No reaction was observed with the other S100 proteins tested, S100A2, S100A3 and S100A4 (8).

As demonstrated by immunocytochemistry on formalin-fixed tissues, the antibody cross-reacts with the S100 equivalent protein in cat, horse, mouse, rat, and swine. Additionally it reacts strongly with human and cow S100.

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.

Storage

Store at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the user must verify the conditions.

There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact our Technical Services.

Specimen preparation

Paraffin sections: The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Heat-induced epitope retrieval in DakoCytomation Target Retrieval

Solution, code No. S 1700, or 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0, is recommended. The tissue sections should not dry out during the treatment or the following immunocytochemical staining procedure.

Frozen sections and cell preparations: In frozen sections the highly soluble S100 molecule tends to show aberrant distribution or elute from the tissue.

Staining procedure

Dilution: Polyclonal Rabbit Anti-S100, code No. Z 0311, may be used at a dilution of 1:400 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections and using 20 minutes

heat-induced epitope retrieval in DakoCytomation Target Retrieval Solution, code No. S 1700, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody.

Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation method, and should be determined by each individual laboratory. The recommended negative control is

DakoCytomation Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), code No. X 0936, diluted to the same protein concentration as the primary antibody. Unless the

stability in the actual test system has been established, it is recommended to dilute the product immediately before use or dilute in DakoCytomation Antibody Diluent, code No.

S 0809.

Visualization: DAKO LSAB™+/HRP kit, code No. K 0679, and DAKO EnVision™+ /HRP kits, code Nos. K 4008 and K 4010, are recommended.

Automation: The antibody is well suited for immunocytochemical staining using automated platforms, such as the DakoCytomation Autostainer.

Performance characteristics

Cells labelled by the antibody display staining confined to the cytoplasm.

Normal tissues: Positive labelling with the antibody is observed in some Langerhans' cells and melanocytes of the skin, interdigitating reticulum cells in lymph nodes, medullary epithelial reticular cells in the thymus, chondrocytes in cartilagenous tissue, adipocytes in some, but not other biopsies, myoepithelial cells in salivary glands and breast, folliculostellate cells of the pituitary gland, and Schwann cells and glial cells of nervous tissue. Weak labelling is found in epithelial cells of the mammary and sweat glands. A negative reaction with the antibody is

Monoclonal Mouse Anti-Human - E-cadherin - Clone: NCH-38⁴

Synonyms: E-CD, uvomorulin, L-CAM, Arc-1, or cell-CAM 120/180¹⁻³

Immunogen: E-cadherin (uvomorulin) and GST recombinant protein⁴

Isotype: IgG₁, kappa

Code M3612

Mouse IgG concentration mg/L: See label on vial.

Intended use For In Vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human E-cadherin, clone NCH-38 (Anti-E-cadherin, NCH-38) is intended for laboratory use to identify qualitatively by light microscopy E-cadherin positive cells in normal and neoplastic

tissues using immunohistochemical (IHC) test methods.

Refer to the "General Instructions for Immunohistochemical Staining" or the Detection System "Instructions"

of IHC procedures for: (1) Principle of Procedure, (2) Materials Required, Not Supplied, (3) Storage, (4) Specimen Preparation, (5) Staining Procedure, (6) Quality Control, (7) Troubleshooting, (8)

Interpretation of

Staining, (9) General Limitations.

Summary**and explanation***Introduction*

E-cadherin is a 120 kD transmembrane cell adhesion molecule. The gene has been localized on chromosome

16q22.1. In its extracellular domain, E-cadherin is involved in cell-cell adhesion through calcium-regulated

homophilic interactions, whereas in its intracellular domain, E-cadherin connects to the actin cytoskeleton via

catenins. E-cadherin has a significant function in intercellular adhesion of epithelial cells, the establishment of

epithelial polarization, glandular differentiation, and stratification. It is localized mainly in the adherens junctions

and concentrates the urokinase plasminogen and the epidermal growth factor receptor to cell contact sites.^{5,6}

Down-regulation of E-cadherin expression has been observed in a number of carcinomas and is usually associated with advanced stage and progression.⁵⁻⁸

Specificity

Anti-E-cadherin, NCH-38 recognizes the 120 kD mature form and 82 kD fragment of E-cadherin in Western

blots of A431 cells lysates.⁴

Reagent provided Anti-E-cadherin, NCH-38 is provided in 1.0 mL size as tissue culture supernatant (containing fetal bovine

serum) dialyzed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and 0.015 mol/L sodium azide. Contains stabilizing protein.

M3612 may be used at a dilution range of 1:50 to 1:100 when performing IHC using the LSAB2, HRP, Liquid DAB detection system. These are guidelines only.

Optimal antibody concentrations may vary depending specimen and preparation method and should be determined by each individual laboratory.

Materials required, but not supplied

Refer to the "General Instructions for Immunohistochemical Staining" and/or the Detection System "Instructions." Suggested diluent for IHC procedures:

Antibody Diluent (code S0809)

The following negative control is recommended for IHC procedures:

Mouse IgG₁ (code X0931)

Precautions 1. For professional users.

2. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations,

though not classified as hazardous, build-ups of NaN₃ may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent azide build-up in plumbing.⁹

3. Minimize microbial contamination of reagents or increase in nonspecific staining may occur.

4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.

5. Safety Data Sheet available for professional users on request.

Storage Store at 2–8°C.

(105481-001)

Cryostat Sections and Cell Smears

Anti-E-cadherin, NCH-38 can be used for labeling acetone-fixed cryostat sections or fixed cell smears. Target or antigen retrieval is not required.

Staining procedure Follow the procedure for the detection system selected.

Staining

Interpretation

The cellular staining pattern for anti-E-cadherin, NCH-38 is membrane and/or cytoplasmic.

Kit Novolink Novocastra

Vantagens do Sistema de detecção de polímeros

NovoLink™ Polymer Detection System (250/500/1250 tests)



System contents (RE7140-K, RE7150-K RE7260-K):

- Peroxidase Block
- Protein Block
- Post Primary Block
- NovoLink™ Polymer
- DAB Chromogen
- NovoLink™ DAB Substrate Buffer (Polymer)
- Hematoxylin



Key advantages

- New to market - Novocastra's first non-biotin polymer detection system
 - CE-Marked product (IVD)
 - Polymer technology offers greatest sensitivity above all other detection systems
 - Detection system of choice
 - Ready to use reagents for a simple and stream-lined protocol
 - Universal detection - detects both mouse and rabbit antibodies
 - Easy to use colour coded dropper bottles and lids – avoids risk of cross-contamination
 - Improved penetration into the tissue
 - Also available without accessories (DAB, Hematoxylin, Blocking reagents)
-

Universidade Federal de Minas Gerais
Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP

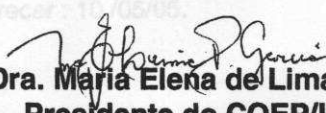
Parecer nº. ETIC 074/05

Interessado: Prof. Victor Hugo de Melo
Depto. de Ginecologia e Obstetrícia/FMUFGM

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP, aprovou no dia 11 de maio 2005, o projeto de pesquisa intitulado « **Resposta imune local às lesões HPV induzidas do colo uterino em pacientes portadoras e não portadoras do vírus da imunodeficiência humana** » bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Profa. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia
Presidente do COEP/UFMG



UNIPAC
Universidade Presidente Antônio Carlos
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Ofício Circular 010/2004

Barbacena, 3.12.2004

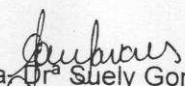
Ref.: Aprovação

Sra. Professora

Comunicamos a Vossa Senhoria que o projeto de pesquisa **Resposta imune local às lesões HPV (protocolo de nº 009)**, após análise pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIPAC – CEP –, no dia 2.12.2004, foi **aprovado**.

O Pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais ao CEP a partir da data de aprovação.

Ciente de sua atenção, antecipadamente agradeço.


Prof.ª ^{Dra.} Suely Gomes Tavares
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
CEP – UNIPAC

Ilma Sra.
Profa. Juliana Barroso Zimmermann
Faculdade de Medicina de Barbacena - MG